ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME XXIX 1954 N° 3

MÉMOIRES ORIGINAUX

INHIBITION DE L'INFECTION A *PLASMODIUM BERGHEI* CHEZ LA SOURIS ET LE RAT PAR L'HORMONE HYPOPHYSAIRE DE CROISSANCE (S.T.H.)

Par H. GALLIARD, J. LAPIERRE et J. MURARD

L'hormone hypophysaire de croissance (ou hormone somatotrope ou somatotrophine), secrétée par le lobe antérieur de l'hypophyse, a été découverte par Evans et Long (1921). Elle a une action phlogistique, mise en évidence par Selye, qui en fait l'antagoniste de l'A.C.T.H. Elle a été utilisée quand la réaction de l'organisme est insuffisante, la tuberculose et la fièvre de Malte par exemple.

Nous avons donné (1953) les premiers résultats obtenus par nous de l'utilisation de S.T.H. dans les infections à *Plasmodium berghei*. Par ailleurs, nous avons montré avec A. Buttner et N. Bourcart l'effet remarquable de S.T.H. dans les infections à *Trypanosoma inopinatum*, toujours mortelles, chez la grenouille *Rana esculenta*. Ces résultats nous ont incités à poursuivre ces recherches.

Matériel et méthode

Chez les souris uniquement mâles, nous avons injecté une solution correspondant à 5 Unités rat tous les 2 jours. Les doses inférieures sont inefficaces. Par ailleurs, les injections intramusculaires répétées étant impossibles chez la souris, nous avons utilisé la voie intrapéritonéale.

Pour le rat, les doses ont été de 8 à 10 Unités tous les 2 jours par la même voie.

La S.T.H. est un facteur spécifique de l'anabolisme des protides. Aussi, dans certains cas, nous avons employé concurremment à la S.T.H. une alimentation avec protides totaux (hyperprotidine).

Effets hématologiques de la S.T.H

Nous avons constaté chez les animaux traités par voie intrapéritonéale (5 Unités tous les 2 jours), vers le 8e jour, une réaction monocytoïde. Les monocytes jeunes rappellent les cellules blastiques par leur morphologie et leurs dimensions. Cette réaction s'estompe par la suite vers la 8e injection (16e jour) et la formule redevient normale. A la 10e injection le nombre des hématies est diminué de moitié environ, celui des leucocytes est augmenté, parfois doublé. Le nombre des éosinophiles s'accroît également. Dans un cas, il avait décuplé le 16e jour.

Début du traitement et inoculation du *Plasmodium* simultanés

Dans cette première série d'expériences (tableau I) la prolongation de la survie a été faible. A ce moment d'ailleurs la virulence

TABLEAU I

Traitement à la Somatotrophine commencé le jour de l'inoculation

SOURIS N°	DOSE DE S.T.H.	INCUBATION	JOUR DE LA MORT	PARASITISME
1.....	5 U. tous les 2 jours.		3e	0
2.....	Témoin.	2 jours	4e	35 0/0
3.....	5 U tous les jours.	3 jours	7e	10 0/0
4.....	idem.	3 jours	9e	8 0/0
5.....	Témoin.	3 jours	6e	40 0/0
6.....	1 U. tous les 2 jours.	2 jours	6e	10 0/0
7.....	Témoin.	2 jours	6e	45 0/0
8.....	5 U. tous les 2 jours.	3 jours	6e	30 0/0
9.....	idem.	11 jours	12e	5 0/0
10.....	Témoin	—	6e	20 0/0
11.....	3 U. tous les 2 jours.	2 jours	7e	40 0/0
12.....	Témoin.	—	7e	30 0/0

de la souche de *P. berghei* était nettement augmentée, les témoins mouraient le 4e ou 6e jour de leur infection avec 35 à 45 % d'hématies parasitées.

Cependant les effets de la S.T.H. (5 Unités tous les 2 jours) sont déjà appréciables. La survie peut dépasser de 5 jours (cas 9) celle des témoins. De plus, l'infection est toujours restée très faible : la courbe en plateau n'a eu dans certains cas aucune tendance à l'élévation. Elle était parfois en régression au moment de la mort. Seules les souris 8 et 11 se sont comportées comme les témoins.

On voit que, malgré l'atténuation du parasitisme, les souris tolèrent difficilement à la fois le traitement et le parasite.

Traitement préparatoire à la S.T.H avant l'infection

Chez ces souris l'hormone a été injectée tous les 2 jours pendant 10 jours (5 fois 5 Unités). Le traitement a été poursuivi après l'inoculation. On voit (tableau II, fig. 1) que dans 2 cas l'infection a

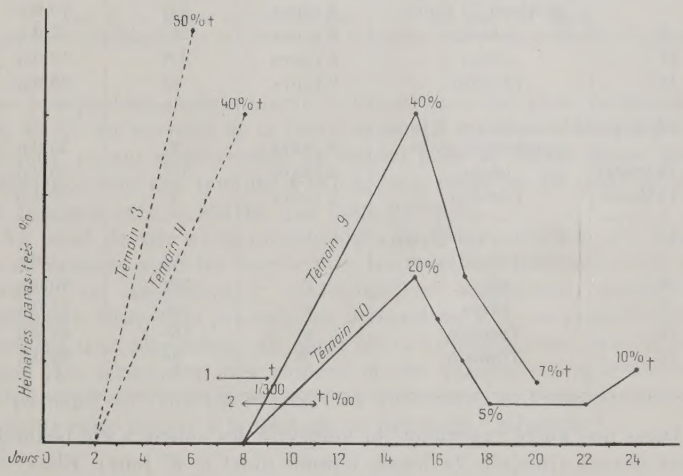


FIG. 1. — *Plasmodium berghei* chez des souris traitées préventivement et curativement par S.T.H. Les souris 1 et 2 ont présenté une infection tardive et très faible. La courbe 10 montre une récurrence de l'infection à la suite de l'interruption du traitement le 22e jour.

été légère et la mort s'est produite le 9e et 11e jour avec 1 pour 300 et 1 hématie parasitée pour 1.000, alors que le témoin est mort le 6e jour avec 40 %.

La souris 4 avait reçu une dose insuffisante.

TABLEAU II

Traitement préparatoire à la Somatotrophine et poursuivi ensuite

SOURIS N°	DOSE DE S.T.H.	INCUBATION	JOUR DE LA MORT	PARASITISME
1.....	5 U. tous les 2 jours pendant 10 jours.	7 jours	9e	1/300
2.....	idem.	8 jours	11e	1/1000
3.....	Témoin.	2jours	6e	50 0/0
4.....	1 U. tous les 2 jours pendant 12 jours.	2 jours	6e	50 0/0
5.....	Témoin.	2 jours	6	50 0/0
6.....	5 U. tous les 2 jours pendant 12 jours.	—	7e	0
7.....	Témoin.	2 jours	6e	30 0/0
8.....	5 U tous les 2 jours pendant 10 jours.	8 jours	15e	10 0/0
9.....	idem.	8 jours	20e	7 0/0
10.....	idem	8 jours	24e	10 0/0
11.....	Témoin.	2 jours	8e	40 0/0
12 (grise)	5 U. tous les 2 jours pendant 8 jours.	3 jours	8e	35 0/0
13 (noire)	idem.	2 jours	13e	35 0/0
14 blanche	Témoin.	2 jours	7e	50 0/0
15.....	5 U. tous les 2 jours pendant 12 jours.	—	10e	0
16.....	idem.	6e	29e	40 0/0
17.....	idem.	6e	10e	15 0/0
18.....	Témoin.	6e	16e	45 0/0
19.....	Témoin.	2e	8e	30 0/0

Dans une autre expérience la longévité des souris a été beaucoup plus grande (jusqu'à 24 jours, témoin mort le 8e jour). Elles sont mortes avec un parasitisme faible (7 à 10 %). Les courbes 9 et 10 sont remarquables. Elles montrent que parfois il peut se produire une chute d'une infection déjà importante, ce qui ne s'observe jamais au 15e ou 18e jour d'une infection normale. Dans le cas 10 l'infection s'est maintenue en plateau 4 jours. Le 22e jour le traitement à la S.T.H. a été cessé et la courbe est remontée aussitôt. Mais dans tous les cas la mort se produit avec un parasitisme très faible.

Dans une autre série d'expériences (fig. 2, t. II) les souris se

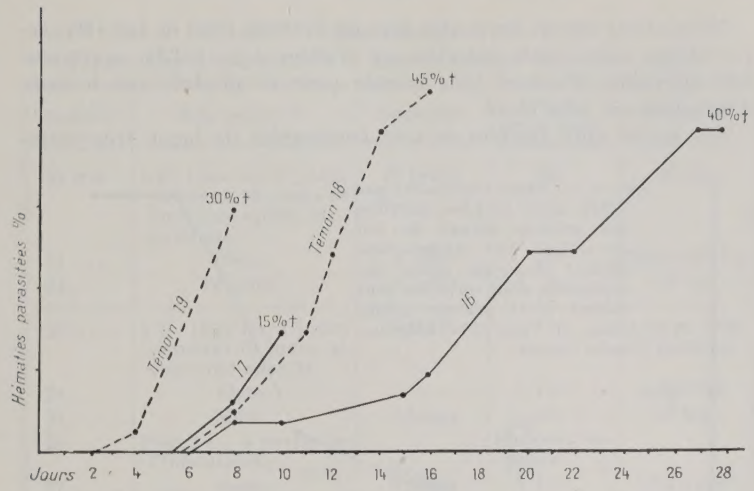


FIG. 2. — Même traitement par S.T.H. que dans la figure 1.
La durée de l'infection de la souris 16 a été tout à fait exceptionnelle (28 jours).

sont comportées différemment. L'infection a été plus importante (40, 45 %) au moment de la mort, mais elle a été retardée jusqu'au 29e jour, ce qui nous semble un record pour la souris. Dans cette expérience l'un des témoins [18] a vécu jusqu'au 16e jour ce qui est anormal avec la souche que nous utilisons.

Au point de vue de la morphologie du *Plasmodium*, il n'y a pas de différences avec les souris non traitées tant que la courbe du parasite est ascendante : multiplication anarchique, nombreux schizontes, libération précoce des mérozoïtes. Puis se produit brusquement une régression, un arrêt de la multiplication avec disparition des schizontes, des rosaces et des formes extraglobulaires. Le parasite est réduit à des formes annulaires et l'aspect du sang rappelle celui du rat à la période du début de l'infection.

Association de la S.T.H. et des protides totaux

Dans les expériences précédentes nous avons donc observé un effet réel de la S.T.H. sur le taux de l'infection. Cependant, la survie peu longue a rendu difficile une appréciation exacte. Aussi nous avons pensé qu'une alimentation riche en protides parviendrait à compenser l'anabolisme dû à l'hormone et à favoriser de ce fait l'action de la S.T.H.

Nous avons nourri les souris avec de l'extrait total de lait (Hyperprotidine). Les souris infectées et traitées à la S.T.H. marquent une appétence d'autant plus grande pour ce produit que le taux d'infection est plus élevé.

Les souris ainsi traitées se sont comportées de façon très varia-

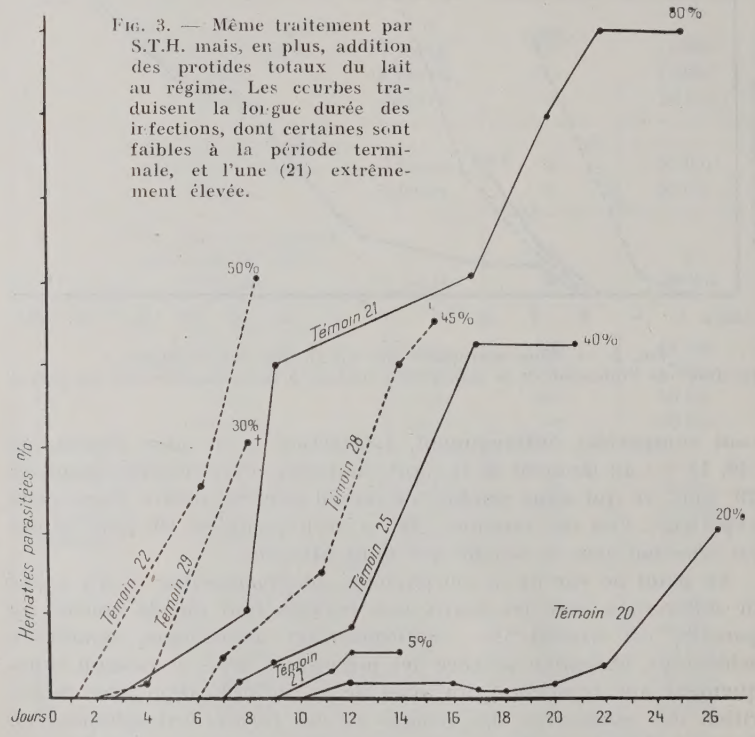


FIG. 3. — Même traitement par S.T.H. mais, en plus, addition des protides totaux du lait au régime. Les courbes traduisent la longue durée des infections, dont certaines sont faibles à la période terminale, et l'une (21) extrêmement élevée.

ble. La période prépatente a été retardée par rapport aux témoins, sauf dans un cas [21]. La souris 27 est morte le 14e jour avec 5 % de parasitisme. La souris 20 a fait une infection torpide à 1 % jusqu'au 20e jour, puis ascension légère à 20 % et mort le 26e jour.

La courbe 25 est intermédiaire entre celles-là et la 21 qui montre une infection précoce, intense, mais très prolongée (25 jours). On ne sait si ce sont l'hormone ou les protides totaux qui ont permis cette survie malgré un parasitisme inhabituel chez la souris.

Cependant, même avec l'addition de protides totaux, nous n'avons pu obtenir des chutes importantes du parasitisme comme dans nos premières expériences (tableau II, fig. 1).

TABLEAU III

Traitement préparatoire à la Somatotrophine et protides totaux

SOURIS N°	DOSE DE S.T.H.	INCUBATION	JOUR DE LA MORT	PARASITISME
20.....	5 U. tous les 2 jours pendant 16 jours et continué après inoculation.	10 jours	26e	20 0/0
21.....	idem.	3 jours	25e	80 0/0 à 90 0/0
22.....	Témoin.	2 jours	8e	50 0/0
23.....	5 U. tous les 2 jours pendant 12 jours et continué ensuite.	8 jours	12e	4 0/0 en voie de régression.
24.....	idem.	—	14e	négative
25.....	idem.	7 jours	21e	40 0/0
26.....	Puis 2 U. à partir de l'inoculation.	—	toujours négative.	
27.....	idem.	9 jours	14e	50/0 avant veille du décès
28.....	Témoin I.	6 jours	16e	45 0/0
29.....	Témoin II.	2 jours	8e	30 0/0

TABLEAU IV

Souris à Plasmodium berghei *nourries avec protides totaux*

SOURIS N°		INCUBATION	JOUR DE LA MORT	PARASITISME
30 523 *bis*	P. berghei + Protides totaux.	7 jours	16e	10 0/0 (en voie de régression)
31 524 *bis*	idem.	6 jours	14e	40 0/0
32 Témoin.	P. berghei sans protides.	6 jours	16e	45 0/0
33 Témoin.		2 jours	8e	30 0/0
34 557...	P. berghei + protides totaux.	5 jours	14e	20 % (Infec. en plateau depuis 4 j.)
35 558 ..	idem.	5 jours	14e	50 0/0
36 559...	idem.	3 jours	6e	25 0/0
37 Témoin I	P. berghei sans protides.	3 jours	6e	25 0/0
38 Témoin II	idem.	3 jours	7e	25 0/0
39 Tém. III	idem.	3 jours	9e	40 0/0

Effets des protides totaux seuls

En présence de ces résultats, nous nous sommes demandé quel pouvait être l'effet des protides totaux employés seuls. La figure IV montre que les résultats sont très appréciables. Les trois témoins sont morts avec 25 et 40 % de parasites du 6e au 9e jour. Des cinq

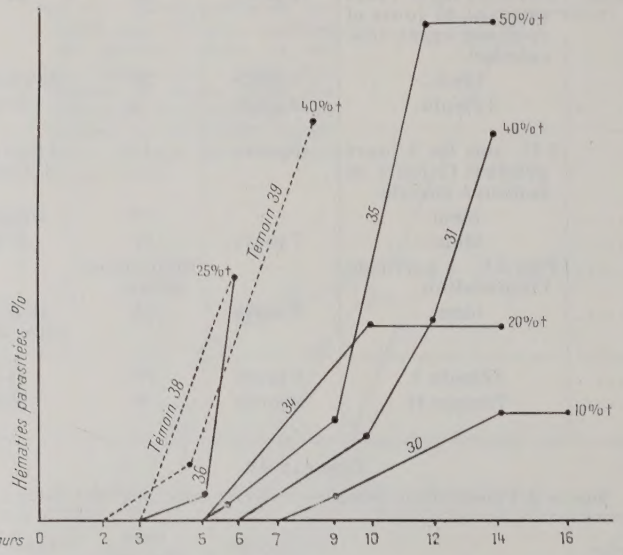


Fig. 4. — Addition de protides totaux au régime, à l'exclusion de S.T.H. Infections d'intensité variable mais toujours prolongées par rapport aux témoins.

souris nourries à l'hyperprotidine, l'une [36] a réagi comme les témoins. Les autres ont présenté un allongement de la période prépatente, avec une durée d'infection prolongée entre 14 et 16 jours, ce qui dans nos expériences est exceptionnel, et avec des taux d'infection variant entre 10 et 50 %. Chez la souris 30, l'infection à 10 % était même en voie de régression et la courbe de la souris 34 était en plateau depuis 4 jours au moment de la mort.

Cependant, l'addition des protides totaux au régime n'a pas permis non plus une survie aussi importante qu'on pouvait l'espérer.

Effets du traitement à l'hormone somatotrope chez le rat

Les effets de la S.T.H. chez le rat ont été beaucoup moins nets. Nous avons utilisé naturellement des rats jeunes de 50 grammes

au maximum. Le tableau montre cependant qu'aucun des rats en expérience traité par la S.T.H. n'est mort, alors qu'un témoin sur deux est décédé. Mais le maximum du taux du parasitisme a été sensiblement le même chez tous. Dans la seconde expérience (rats VIII à XI), deux rats traités ont présenté une infection plus faible que le témoin, mais le troisième (IX) est mort de son infection avec un taux de 80 % comme le témoin qui a cependant guéri.

En présence de ces résultats, nous n'avons pas poursuivi l'expérience avec la S.T.H. Avec les protides totaux, nous n'avons obtenu que des effets discordants : les infections ont varié à leur maximum entre 10 et 65 % d'hématies parasitées.

TABLEAU V

Rats de 50 grammes traités par l'Hormone Somatotrope

RAT N°	DOSE DE S.T.H. INJECTION TOUS LES 2 JOURS	INCUBATION	PARASITISME MAXIMUM	GUÉRISON	MORT
I.....	80 U (40 U avant inoc. + 40 U après)	2 jours	7e j. 30 0/0	27e j.	
II.....	Idem	2 jours	11e j. 60 0/0	27e j.	
III.....	Idem	2 jours	11e j. 55 0/0	27e j.	
IV.....	Idem	2 jours	9e j. 60 0/0	27e j.	
V.....	Idem	2 jours	11e j. 65 0/0	17e j.	
VI. Témoin .		2 jours	17e j. 60 0/0		17e j.
VII. Témoin.		2 jours	11e j. 40 0/0	27e j.	
VIII.....	100 U après inoculation	3 jours	17e j. 65 0/0	24e j.	
IX.....	Idem	2 jours	14e j. 80 0/0		15e j.
X.....	Idem	3 jours	17e j. 55 0/0	24e j.	
XI. Témoin..		2 jours	16e j. 85 0/0	25e j.	

Essais de la S.T.H. dans la Toxoplasmose et la Trypanosomose à *T. brucei*

La souche de *Toxoplasma* (Institut Pasteur) tue normalement les souris en 5 à 6 jours. Les souris ont reçu comme dans les expériences précédentes un traitement préparatoire. Onze ont été inoculées par voie intrapéritonéale. La survie a été prolongée une fois de 3 jours par rapport aux témoins ; dans deux autres cas, ce fut

l'inverse ; pour les autres, les souris traitées sont mortes en même temps que les témoins. Les résultats sont donc nuls.

Cependant, chez le cobaye, l'effet de l'hormone semble plus marqué à condition de prolonger le traitement. Ainsi un cobaye ayant reçu 400 unités pendant deux mois a survécu 13 jours, alors que les témoins sont morts entre 6 à 8 jours.

La souche de *T. brucei* (Inst. Pasteur) tue les rats en 6 à 9 jours et les souris en 3 à 4 jours. Malgré un traitement préparatoire à la S.T.H. et poursuivi après l'inoculation, la mort s'est produite en même temps et avec le même taux d'infection que chez les témoins chez trois rats de 200 gr. et 6 souris de 20 gr.

Ainsi l'hormone somatotrope ne semble donner aucune résistance appréciable à la souris contre le *Toxoplasma*, ni à la souris et au rat contre *T. brucei*.

Conclusions

L'hormone somatotrope exerce en général chez la souris une action retardante et neutralisante très nette sur l'infection à *P. berghei*, à condition que l'animal soit préparé par un traitement antérieur à l'inoculation et poursuivi après.

Cependant, on peut observer deux ordres de faits. Dans le premier l'infection ne se développe pas et reste à un taux extrêmement bas. Ou bien la courbe monte pour redescendre ensuite et rester en plateau, et remonter ensuite quand le traitement est interrompu. Dans un deuxième ordre de faits, l'infection a progressé mais avec une longue période prépatente et a duré exceptionnellement longtemps (jusqu'à 28 jours).

Il est évident que, malgré l'effet inhibiteur de la S.T.H., la souris traitée ne peut survivre longtemps lorsqu'elle héberge en même temps le *Plasmodium*. Pour pallier à l'anabolisme exagéré des protides, nous avons complété le régime avec les protides totaux du lait.

Dans ce cas, nous avons observé tantôt la persistance très longue d'un parasitisme très réduit (5 % à 20 % jusqu'à 28 jours), soit une infection durable et intense allant jusqu'à 80 % le 27e jour, chiffres que nous n'avions jamais observés auparavant. Il est possible que les protides compensent l'effet anabolisant de la S.T.H., permettant ainsi à l'animal de résister et à l'infection d'atteindre des taux exceptionnellement élevés.

A ce propos, rappelons la très grande diversité des opinions sur la durée de survie des souris infectées par *P. berghei*. Dernièrement encore, Greenberg, Nadel et Coatney ont constaté que deux souches de souris de consanguinité prolongée (« inbred ») se sont comportées de façon très différente, les souris survivant 9,9 jours dans un

cas (comme les souris non « inbred »), 15,9 dans l'autre cas et 20,5 jours pour les hybrides de ces deux souches. Il en est de même pour les femelles survivant plus longtemps que les mâles, et les souris âgées plus longtemps que les jeunes. Cependant, il est difficile d'établir des lois. L'évolution de l'infection est aussi fonction de l'époque à laquelle on expérimente. L'état général est un facteur plus important que l'âge, et les souris femelles présentent souvent une infection explosive et suraiguë. D'ailleurs, les expériences relatées ci-dessus montrent aussi que les résultats obtenus à des époques différentes sont singulièrement variables.

L'action des protides totaux du lait administrés seuls, à l'exclusion de la S.T.H., s'est traduite aussi par un allongement de la période prépatente, par un allongement de la durée de la vie et parfois une réduction très nette du taux d'infection à la période terminale.

Les résultats d'ensemble concernant *P. berghei* sont représentés dans la fig. 5.

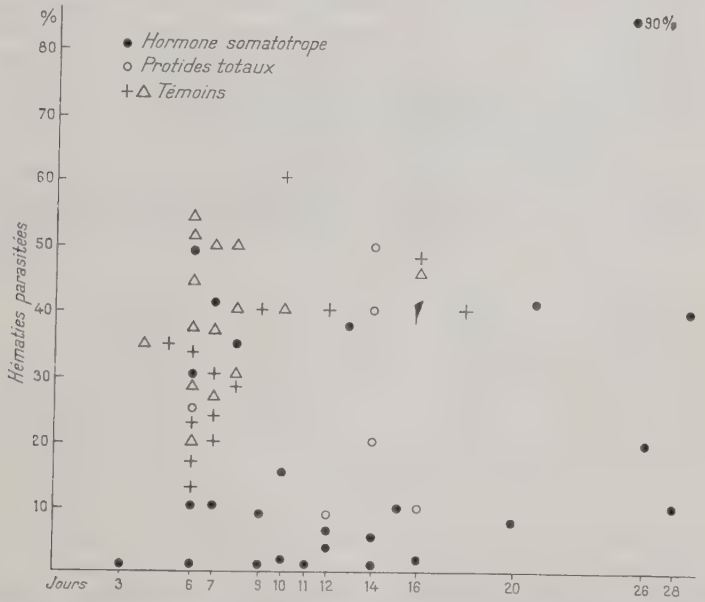


FIG. 5. — *Plasmodium berghei*, hormone somatotrope et protides totaux chez la souris. Les signes indiquent le jour de la mort. Les triangles indiquent l'infection des souris témoins des expériences et les croix celle de témoins divers et de souris de passage.

Chez le rat, l'effet de la S.T.H., même chez les animaux jeunes, est beaucoup moins nette. Aucune conclusion ne peut être tirée des résultats contradictoires obtenus. Il en est de même pour les protides totaux.

En ce qui concerne la toxoplasmose chez la souris, l'infection à *Trypanosoma brucei* chez le rat et la souris, la S.T.H. n'a exercé aucune action retardante ou inhibitrice.

Bibliographie

Albeaux-Fernet (M.). — Le rôle de la somatotrophine dans le syndrome général de l'adaptation. *Presse Médicale, 60,* 1952 (76), p. 1621.

Evans et Long. — *Anat. Rec., 21,* 1921, p. 61.

Galliard (H.) et Lapierre (J.). — Effets neutralisants de la somatotrophine hypophysaire, dans les infections à *Plasmodium berghei* chez la souris. *C.R. Acad. des Sciences,* 237, 24-8-53, p. 477-479.

—, Buttner (A.) et Bourcart (N.). — Effet de l'hormone somatotrope sur une trypanosomose mortelle pour *Rana esculenta* L., due au *Trypanosoma inopinatum* Sergent 1904 (souche algérienne). *C.R. Soc. de Biol., 147,* 1953, p. 1695.

Greenberg (J.), Nadel (E. M.) et Coatney (G. R.). — The Influence of Strain, Sex and Age of Mice on Infection with *Plasmodium berghei. J. infect. Dis.,* 1953, juillet-août, v. 93. n° 1, 96.

Laborit (H.), Favre (A.), Duchesne (G.), Dechen (J.) et Bastit (G.). — Essai d'utilisation d'une somatotrophine hypophysaire en pathologie générale. *Presse Médicale, 61,* 1953 (53), p. 1085.

Selye (H.). — Role of somatotropic hormone (STH) in body defence against infection. *Amer. Physiol. Soc.,* 64th annual Meet. New-York, 4, 1952, 14-18, in *Fed. Proc.,* 2, 1952 (1), 144.

(*Faculté de Médecine de Paris, Institut de Parasitologie*)

ACTION DE LA SOMATOTROPHINE HYPOPHYSAIRE ET DE LA NUTRITION SUR L'ÉVOLUTION DE *TRYPANOSOMA INOPINATUM* SERGENT, 1904 (SOUCHE ALGÉRIENNE) CHEZ LA GRENOUILLE VERTE

Par H. GALLIARD, A. BUTTNER et N. BOURCART

Introduction. Exposé des recherches

Dans une note antérieure (1953), nous avons signalé les effets neutralisants de la somatotrophine hypophysaire sur l'évolution d'un Protiste sanguicole, *Trypanosoma inopinatum* Sergent, 1904, parasite de la grenouille verte. Le traitement à l'hormone n'empêchait pas l'infestation, ainsi qu'en témoignait la présence de faisceaux de flagelles dans les reins et les poumons des animaux autopsiés ; mais on n'observait pas de Trypanosomes dans le sang, à l'exception de quelques rares formes géantes, atypiques.

Toutefois, à la dose utilisée, la S.T.H. se montra léthale pour les batraciens traités qui succombèrent, plus ou moins rapidement, à des lésions organiques essentielles, non imputables aux Trypanosomes.

Pour compenser l'action sur le métabolisme de la S.T.H., facteur spécifique de l'anabolisme des protéines, nous avions donné aux animaux traités des repas de viande, et, afin que les conditions d'expériences soient comparables, nous en avions fait absorber aux témoins les mêmes quantités. Dans les conditions habituelles de nos expériences, les témoins ne sont jamais nourris. Nous avions ainsi pu constater un certain accroissement de la résistance de l'hôte et une tendance plus ou moins marquée vers la guérison spontanée chez les témoins alimentés.

Ces observations nous ont incités, dans les présentes recherches, à reprendre ces expériences ; nous avons tenté d'individualiser les effets particuliers dûs au facteur hormonal ou au facteur alimentaire, et avons recherché par ailleurs s'il existait une dose de S.T.H. susceptible de neutraliser l'infestation, tout en restant compatible avec la vie de l'animal.

Matériel et techniques

a) **Matériel** : Rappelons que l'on connaît actuellement deux races géographiques de *Trypanosoma inopinatum*, de virulence inégale : l'une, algérienne, découverte par Ed. et Et. Sergent en 1904, détermine chez les grenouilles vertes de France une maladie expérimentale toujours mortelle ; l'autre, portugaise, étudiée par E. Brumpt et C. França, ne produit dans les mêmes conditions que des infestations chroniques (E. Brumpt, 1910).

La souche que nous utilisons est originaire du Jardin d'Essai d'Alger (1) ; elle est entretenue au laboratoire depuis 1948 par passages sur *Rana esculenta* ou *R. temporaria*, et sur *Helobdella algira*, son hôte intermédiaire, dont nous possédons un élevage. Il s'agit donc du virus fort. Précisons qu'au cours des passages successifs, cette souche constamment contrôlée a conservé intact son pouvoir pathogène et s'est toujours montrée mortelle pour les grenouilles vertes.

Les batraciens infestés et traités sont des *Rana esculenta* L., var. *ridibunda*, ♂ ou ♀, originaires de Vendée, pesant entre 20 et 40 gr.

b) **Techniques** : L'infestation a toujours été pratiquée par inoculation dans le sac dorsal de 0 cc. 5 de sang infectieux citraté, contenant approximativement 500 Trypanosomes par mm^3.

Les injections d'hormone ont été faites toutes les 48 heures, soit à raison de 5 U.-R. (2) par 40 gr. de poids (dose faible), soit de 10 U.-R. pour le même poids (dose forte). L'action de l'hormone n'étant pas immédiate, un certain nombre de spécimens ont été traités aux doses faibles, antérieurement à l'inoculation de sang infectieux (traitement préventif).

L'alimentation consistait en foie cru haché, introduit dans l'œsophage toutes les 48 heures. Cette alimentation a été poursuivie pendant 40 jours environ.

Ultérieurement, l'alimentation au foie a été remplacée par des repas bi-hebdomadaires, comportant alternativement de la viande hachée et des vers de vase (larves de *Chironomus plumosus*).

L'infestation a été contrôlée par des examens de sang frais, prélevé au niveau des doigts tous les 2 ou 3 jours, ainsi que sur frottis d'organes colorés au biéosinate de bleu de méthylène et sur coupes d'organes fixés au liquide de Bouin et colorés à l'hémalun-éosine.

(1) Cette souche nous a été aimablement envoyée par le Professeur Edmond Sergent en 1948.

(2) Unité-Rat : activité de la plus petite quantité d'hormone provoquant une augmentation de poids d'un gramme par jour chez des rats hypophysectomisés (10 g. en 10 j.), selon Evans et coll.

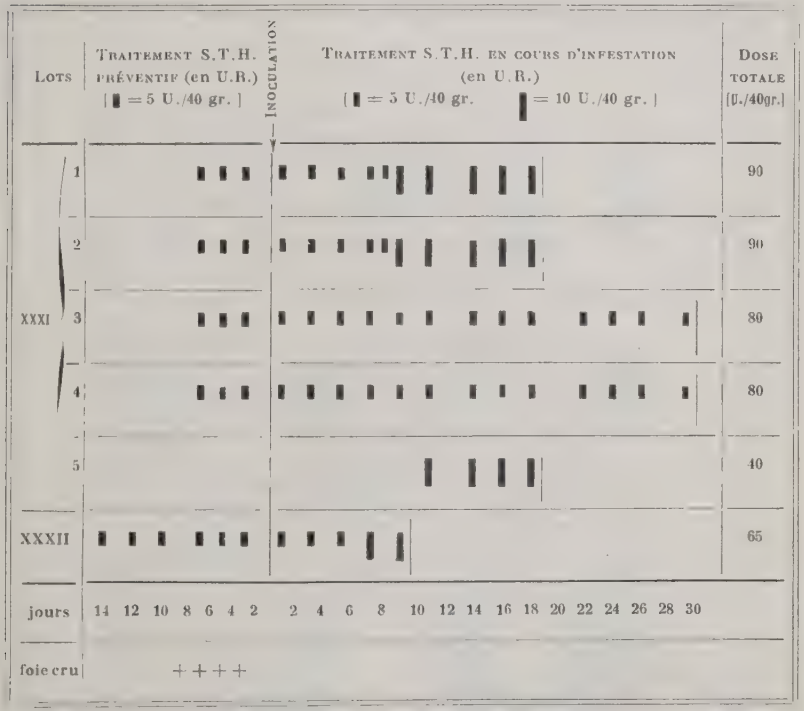
c) **Protocoles expérimentaux** : Quatre lots de *Rana ridibunda* ont fait l'objet de nos expériences :

1° *Rana témoins* (lot XXVIII) : 3 spécimens infestés dans les conditions habituelles et non nourris.

2° *Rana alimentées au foie cru* (lot XXIX) : 4 spécimens nourris au foie pendant 40 jours à dater de l'infestation.

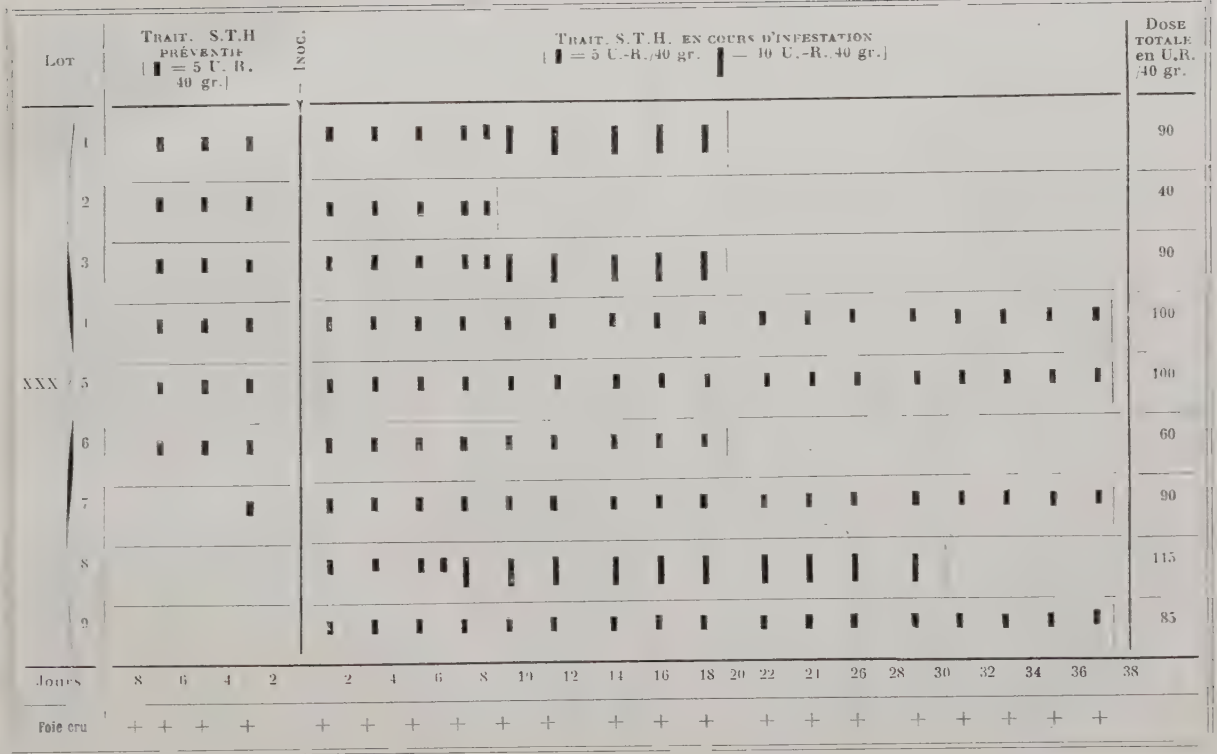
3° *Rana traitées à la S.T.H. et non alimentées pendant le traitement* (lots XXXI et XXXII) : 5 spécimens traités préventivement et pendant l'infestation et un spécimen ($XXXI_5$) traité en cours d'infestation ; nourris au foie avant le traitement proprement dit (voir tableau I).

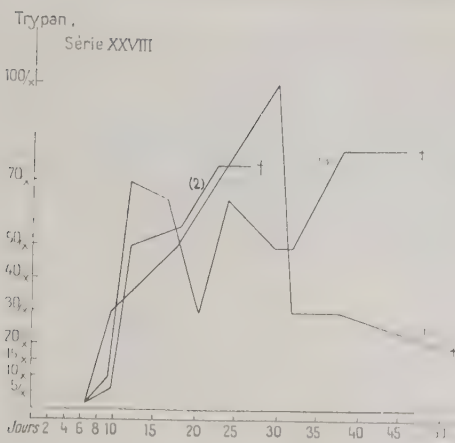
TABLEAU I



4° *Rana traitées à la S.T.H. et nourries au foie cru pendant le traitement* (lot XXX) : 9 spécimens traités suivant modalités figurant sur le tableau II, nourris au foie avant et pendant le traitement.

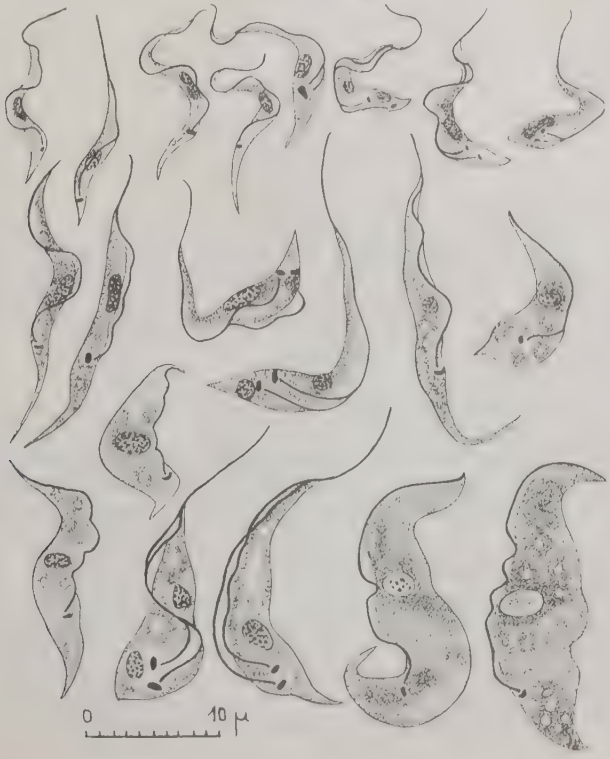
TABLEAU II


LOT
TRAIT. S.T.H PRÉVENTIF [▮ = 5 U. R. 40 gr.]
INOC.
TRAIT. S.T.H. EN COURS D'INFESTATION [▮ = 5 U.-R./40 gr. ▮ = 10 U.-R./40 gr.]
DOSE TOTALE en U.R. /40 gr.
1
2
3
4
XXX
5
6
7
8
9
90
40
90
100
100
60
90
115
85
Jours
8 6 4 2 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38
Foie cru
+ +



Graphique 1 (ci-contre). — *Rana témoins* (lot XXVIII) : sang périphérique, courbes d'infestation.

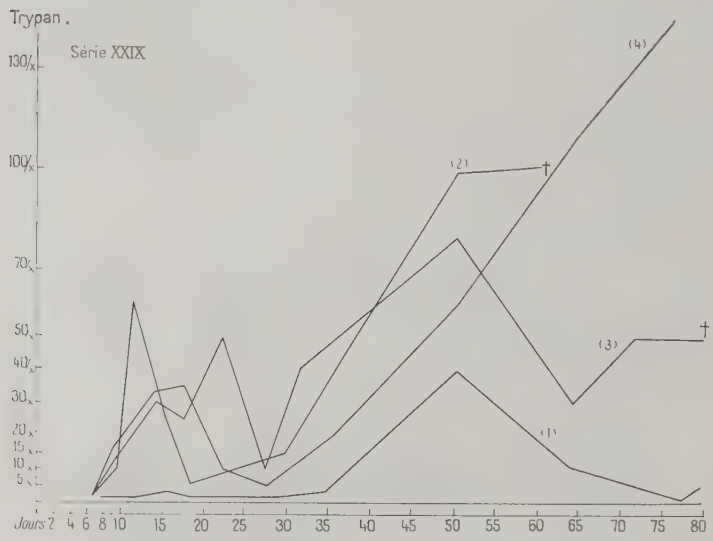
FIG. 1 (ci-dessous). — *Trypanosoma inopinatum* Sergent, 1904 : Formes évolutives dans le sang de *Rana esculenta var. ridibunda* : rangée supérieure, formes grêles ; rangée intermédiaire, formes moyennes ; rangée inférieure, début des formes géantes.



Résultats

1) Les *témoins* (lot XXVIII) meurent au bout d'un temps variable (27, 48 et 50 jours), avec une forte infestation (très nombreuses grandes formes dans le ventricule cardiaque, moins abondantes dans les autres organes ; dans le sang périphérique, 20 à 80 Trypanosomes par champ) (graphique I).

Rappelons que, dans le développement normal, le *Trypanosoma ino-*



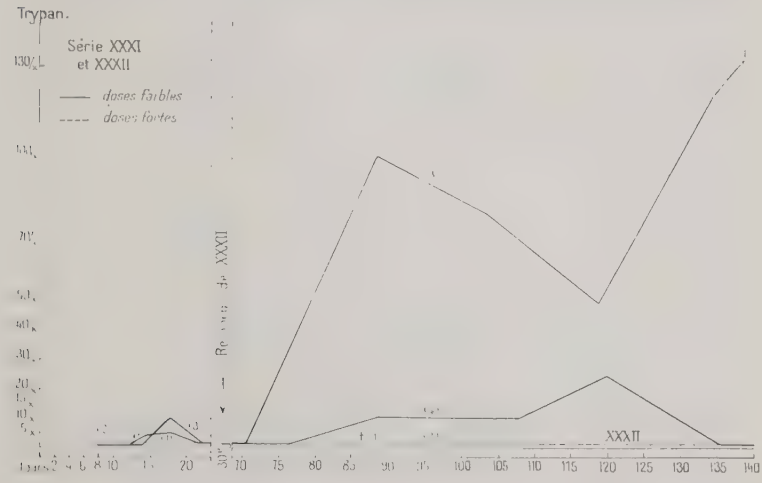
Graphique II. — *Rana* nourries au *foie* (lot XXIX) : sang périphérique, courbes d'infestation

pinalum se présente chez l'hôte vertébré sous trois formes successives qui marquent les étapes de la croissance : formes grêles (10 à 15 μ), moyennes (15 à 25 μ), enfin géantes (25 à 35 μ) (fig. 1), qui s'accumulent dans les organes et surtout dans le cœur à la fin de l'infestation. Leur division dans le sang est toujours binaire. La durée de l'infestation dépend essentiellement de la température, de la dose inoculée, et accessoirement des réactions individuelles de l'hôte ; elle peut varier entre 15 et 50 jours. Elle détermine une anémie plus ou moins marquée, considérablement accrue quand l'animal est infesté par piqûre de sangsues.

2) Les *batraciens nourris au foie cru* (lot XXIX) montrent chez trois d'entre eux sur quatre, entre le 11e et le 22e jour, une brusque ascension

du parasitisme dans le sang (30 à 60 Trypanosomes par champ) ; la courbe s'infléchit rapidement, puis accuse une nouvelle recrudescence, dont le maximum se situe entre le 49e et le 77e jour ; celle-ci s'avère beaucoup plus importante que la montée initiale. Elle entraîne la mort de trois spécimens. On note néanmoins une survie notable par rapport aux témoins (l'exemplaire 2 meurt après 62 jours ; 4 après 85 jours ; 3 après 99 jours) (graphique II).

L'exemplaire 1, seul survivant de ce lot, fait à l'origine une infestation faible dont le maximum (3 Trypanosomes par champ) est observé



Graphique III. — *Rana* traitées à la *S.T.H.* (non alimentées pendant le traitement) : sang périphérique, courbes d'infestation

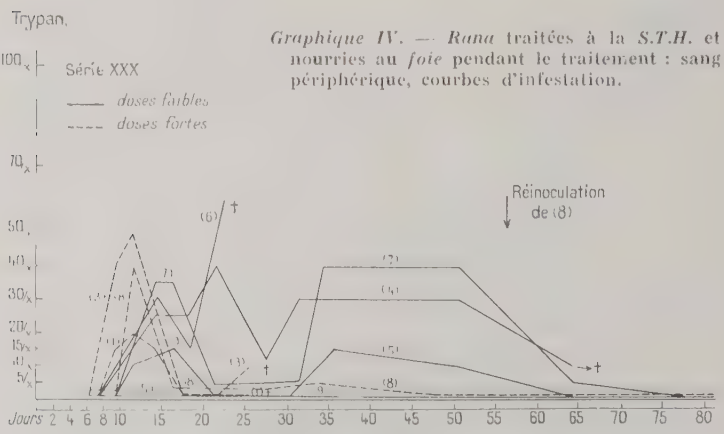
le 15e jour. Une rechute assez grave se manifeste au bout d'un mois environ; elle atteint 40 Trypanosomes par champ le 19e jour, puis s'atténue progressivement pour tomber pratiquement à zéro vers le 77e jour. Une seconde rechute s'amorce aussitôt ; elle croît lentement et très progressivement. L'animal est toujours en vie après six mois d'infestation, mais s'épuise lentement.

3) Les *batraciens traités à la S.T.H. et non alimentés pendant le traitement* (lots XXXI et XXXII) font des infestations faibles ou nulles lors de l'interruption du traitement, à l'exception de $XXXI_5$, traité en cours d'infestation. Cet animal meurt au bout de 22 jours avec une infestation considérable (150 Trypanosomes par champ dans le sang périphérique) (graphique III).

Les trois spécimens traités aux doses fortes pendant une durée varia-

ble s'infestent à peine (1 à 5 Trypanosomes par champ) et, très rapidement, seuls quelques rares Trypanosomes s'observent parfois dans le sang périphérique. Ils sont encore vivants après six mois d'infestation, à l'exception de l'un d'eux ($XXXI_1$), qui succombe au bout de 77 jours, avec une très forte anémie. A l'autopsie, les organes (reins et foie surtout) présentent des lésions dues au traitement hormonal. L'infestation ne se trahit que par de nombreux flagelles nus dans les reins, plus rares dans le cœur. Il n'y a pas de formes vivantes.

L'exemplaire XXXII, réinoculé le 14 janvier, soit un mois après la première infestation, fait une très légère réinfestation (± 5 Trypanoso-



Graphique IV. — *Rana* traitées à la *S.T.H.* et nourries au *foie* pendant le traitement : sang périphérique, courbes d'infestation.

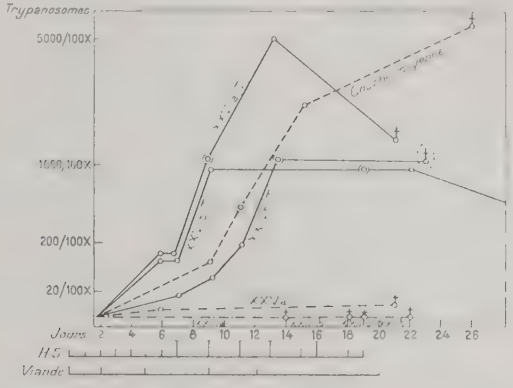
mes/lam. 22 × 22), qui se maintient pendant quatre mois à un taux extrêmement bas et finit par céder après six mois.

Les spécimens traités aux doses faibles font une courbe légèrement ascendante 15 à 20 jours après l'infestation ; puis les Trypanosomes disparaissent du sang périphérique pour reparaître vers le 70e et 77e jour. Cette manifestation est l'amorce d'une rechute, qui atteint 40 à 250 Trypanosomes par champ et se maintient à un taux variable pendant près de deux mois. Le traitement à l'hormone n'est pas repris, car il semble inefficace en cours d'infestation ($XXXI_5$). La grenouille la plus infestée meurt après plus de quatre mois et demi ($XXXI_3$), tandis que la moins atteinte ($XXXI_4$) neutralise peu à peu son parasitisme et évolue à nouveau vers la guérison.

Peu après l'arrêt du traitement à l'hormone, l'alimentation est reprise (viande et vers de vase), à raison de deux repas par semaine.

4) Les *batraciens traités à l'hormone et nourris au foie* (lot XXX) font une poussée évolutive initiale relativement précoce, de l'ordre de 20 à 50 Trypanosomes par champ.

Sur 8 grenouilles de cette série, 3 meurent au bout de 21 et 28 jours (Exempl. 6, 3 et 1), avec des taux d'infestation variable (60, 10 et 2 Trypanosomes par champ). Les batraciens survivants font des rechutes au bout d'un mois environ ; mais le nombre de Trypanosomes par champ ne dépasse pas 10 dans les traitements forts et 40 dans les traitements faibles ; il régresse peu à peu pour tendre vers zéro au bout de 60 jours (graphique IV). Une neutralisation presque totale de l'infestation s'observe chez les exemplaires encore vivants de cette série, qu'ils aient été traités aux doses faibles ou aux doses fortes. Toutefois, ces animaux finis-



Graphique V. — Courbes d'infestation : sang périphérique : – – – – *Rana* témoins ; —— *Rana* infestées et nourries ; – · – · – *Rana* infestées, nourries et traitées à la S.T.H. ; ◎ Apparition des formes moyennes de *T. inopinatum* ; † Animal sacrifié.

sent par succomber aux lésions organiques essentielles, surtout hépatiques et rénales, dues au traitement à l'hormone, tout en présentant par rapport aux témoins une survie importante (exempl. 4, 65 j. ; 5, 118 j. ; 9, 125 j. ; 8, 132 j. ; 7, 135 j.).

5) *Rappel des résultats d'expériences antérieures* (1953) : Au cours de nos premières expériences sur le même sujet (1953), nous avons obtenu les résultats suivants (graphique V) :

« Sur 5 grenouilles inoculées et traitées à l'hormone somatotrope (nourries à la viande de bœuf tous les trois ou quatre jours), 4 n'ont présenté aucun Trypanosome dans le sang périphérique ; la 5e s'est montrée très faiblement positive à partir du 5e jour (1-2 Trypanosomes/lam. 22 × 22). La ponction du foie était positive le 12e jour, tandis qu'elle restait négative pour les autres grenouilles traitées. A l'autopsie, le cœur, le rein et le foie montraient quelques rares formes géantes atypiques chez la

TABLEAU III

Rana ridibunda N° des lots	Batr. infestés	Traitement a la S.T.H. (en U.R.) d. faible (5 u./40 g.)	d. forte (10 u./40 g.)	d. totale U. 40 g.	Alimentation Foie cru	Viande crue	Durée de l'infestation (en jours)	Morts (État de l'infestation)	Vivants (État de l'infestation *in* sang périphér.)
(Témoins)	Ex. 1						50	++	
	— 2						45	++	
XXVIII.	— 3						27	++	
	Ex. 1				×		185*		+
	— 2				×		62	+++	
XXIX	— 3				×		99	++	
	— 4				×		85	+++	
	Ex. 1		×	90			77	# O	
	— 2		×	90			185*		# O
XXXI..	— 3	×		80			145	+++	# O
	— 4	×		80			185*		
XXXII..	— 1	×	×	65			185*		O
	Ex. 1		×	90	×		28	# O	
	— 2		×	40	×		8	mort prèc.	
	— 3		×	90	×		28	+	
	— 4	×		100	×		65	+	
XXX...	— 5	×		100	×		118	# O	
	— 6	×		60	×		21	++	
	— 7	×		90	×		135	# O	
	— 8		×	115	×		132	# O	
	— 9	×		85	×		125	# O	
XXII.**	Ex. a		×	165		×	14	O	
	— b		×	160		×	18	O	
	— c		×	130		×	19	O	
XXV**	— a		×	110		×	21	O	
	— b		×	90		×	22	O	
XXIV**	— b					×	23	+	
XXVI**	— a					×	21***	+	
	— b					×	245*		O

* Batraciens encore actuellement vivants.
** Rappel d'expériences antérieures (Galliard, Buttner et Bourcart, 1953).
*** Grenouille sacrifiée.

Rana XXVa, la seule ayant eu quelques Trypanosomes dans le sang périphérique ; les frottis d'organes des autres grenouilles traitées ne présentaient pas de Trypanosomes, à l'exception d'un cœur (XXVb) et de deux reins (XXIIIc et XXVb). Des faisceaux de flagelles, vestiges de Trypanosomes disparus, étaient présents dans le rein et le poumon de toutes les grenouilles traitées. »

« Chez les témoins également nourris à la viande, l'infestation a, au contraire, débuté comme une infestation normale ; les premiers Trypanosomes apparaissent dans le sang périphérique du 4e au 7e jour ; l'accroissement est sensible jusqu'au 11e jour ; puis les courbes s'infléchissent ou se stabilisent. L'autopsie révèle la présence de très nombreuses formes géantes dans le cœur et dans certains organes (reins, poumons) ; ces formes sont semblables à celles des infestations normales de *Rana* non alimentées. »

« Le témoin XXVIb a présenté une survie inhabituelle avec diminution des Trypanosomes dans le sang à partir du 11e jour, suivie de réapparition de petites formes flagellées vers le 60e jour ; sans doute parce que l'animal n'avait été alimenté, au cours de cette période, que pendant 40 jours. La reprise régulière de l'alimentation a fait régresser l'infection, qui est presque neutralisée à présent, au 82e jour de la maladie. »

Ajoutons que ce témoin est toujours vivant et en bonne santé apparente. Après huit mois, il présentait encore de très rares Trypanosomes dans le sang (1 pour 100 ×) ; après neuf mois, les Trypanosomes ont disparu du sang périphérique ; l'infestation semble définitivement neutralisée.

Afin de mieux faire apparaître le bilan général de cette expérimentation, nous en donnons ci-contre un bref tableau synthétique (tabl. III).

Ainsi, sur 25 *Rana ridibunda* infestées, soumises au traitement à la S.T.H. ou à un régime alimentaire particulier, 5 sont encore vivantes et, à l'exception d'une seule ($XXIX_1$), pratiquement guéries après six et huit mois d'infestation ; 11 sont mortes guéries après avoir bénéficié parfois d'une survie importante ; 9 sont mortes infestées dont 5 avec un taux d'infestation élevé et 4 avec un parasitisme faible souvent en régression ; dans 50 p. 100 de ces derniers cas, la durée de l'infestation a été notablement accrue (62, 65, 85, 99 et 145 jours).

Interprétation des résultats. Discussion

Malgré l'apparente diversité des résultats obtenus, un certain nombre d'observations peuvent être dégagées de nos expériences.

Nous envisagerons les conséquences que l'on peut en tirer quant à l'action de l'hormone ou du régime alimentaire sur le parasitisme.

1) Effets dus à l'hormone

a) *Sur le parasite :* L'examen de nos résultats montre que la S.T.H. a un rôle inhibiteur sur le développement des Trypanosomes, sensiblement en rapport avec la dose utilisée.

A raison de 10 U.-R. par 40 gr. de poids toutes les 48 heures (dose

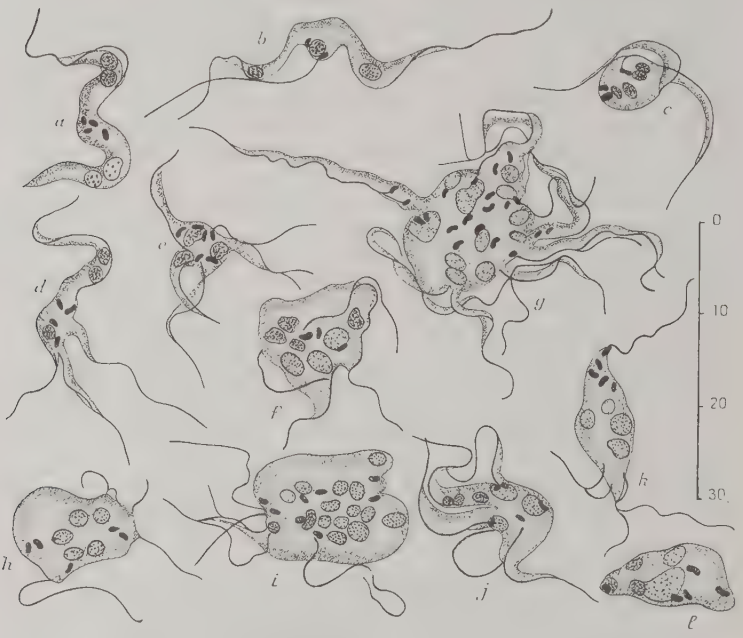


Fig. 2. — Modifications morphologiques du *T. inopinatum* dans le sang de *R. ridibunda*, sous l'action de la S.T.H. : Divisions atypiques des noyaux et des blépharoplastes (formes en pieuvre) ; observer en f, g, i, j, k, l, la présence de noyaux géants et de petits noyaux dans le même plasmode ; croissance anarchique des flagelles.

forte), et en l'absence de toute nourriture, l'effet neutralisant est à peu près total, malgré la persistance de très rares petites formes dans le sang chez les survivants.

Aux doses faibles, la S.T.H. a simplement une action retardante. Elle inhibe la poussée évolutive initiale, mais ne met pas à l'abri des rechutes. Celles-ci se manifestent au bout d'un temps assez long (70-77e jour) et peuvent être le point de départ d'une multiplication des Trypanosomes qui déterminent parfois la mort de l'animal. Ces

rechutes ne s'observent pas chez les sujets traités aux doses fortes.

Cette action de l'hormone n'est jamais immédiate. Un traitement effectué en cours d'infestation s'est montré inopérant ($XXXI_5$). Ceci vient à l'appui des observations de Galliard et Lapierre (1953), selon lesquelles, pour le *Plasmodium berghei*, hémosporidie à évolution rapide, un traitement préventif est nécessaire pour que la S.T.H.

Fig. 3. — Effets de gigantisme observés parmi les grandes formes de *T. inopinatum* sous l'action de la S.T.H. chez *Rana ridibunda* ; a, b, c, d, e : formes géantes dans le sang d'une grenouille traitée ; f, g, grandes formes normales chez une grenouille témoin ; h, petite forme ; i, érythrocyte.

puisse agir efficacement chez la souris. Dans le cas du *Trypanosoma inopinatum*, le développement relativement lent des premières formes infestantes (en moyenne 5 à 8 jours) est d'une durée suffisante pour permettre à l'hormone d'exercer son action lorsqu'on commence le traitement au jour de l'inoculation de sang infectieux (lot XXX : 7, 8 et 9). Les divers traitements préparatoires réalisés ne semblent pas avoir renforcé l'action inhibitrice de l'hormone sur les Trypanosomes.

En dehors de cette activité inhibitrice, la S.T.H. exerce des modifications morphologiques et physiologiques sur les formes évolutives du *Trypanosoma inopinatum* du sang périphérique ou profond. Des formes aberrantes apparaissent dans le sang vers le 15e jour, lorsque l'évolution des Trypanosomes atteint le stade des formes moyennes. On observe alors des masses plasmodiales à nombreux noyaux (nous en avons compté jusqu'à 14), pourvues d'expansions tentaculaires, très mobiles quand elles sont bordées de flagelles (formes en pieuvre, fig. 2). Ces divisions du noyau, non suivies de plasmodiérèse, témoignent, semble-t-il, d'une action directe sur l'activité mitotique. Cette action est difficile à analyser, car, dans le même plasmode, les noyaux sont souvent de taille très inégale ; les uns géants, à chromatine lâche, ne sont pas parvenus à se diviser et semblent vraisemblablement polyploïdes ; les autres plus petits, à chromatine de plus en plus condensée, sont visiblement le produit de divisions successives.

L'hormone détermine donc ici des mitoses atypiques qui font en général avorter le développement. Cette action paraît s'exercer électivement au stade des formes moyennes ; nous n'avons rien observé d'anormal dans les stades précoces ; chez les formes géantes, nous avons pu noter certains aspects de gigantisme dûs peut-être aux formes de division ayant hérité de noyaux présumés polyploïdes (fig. 3).

Nous nous sommes demandés si les troubles apportés au développement des Trypanosomes et l'apparition de formes monstrueuses dans le sang sous l'effet de l'hormone ne constituaient pas des manifestations d'une altération constitutionnelle du virus. Mais, l'inoculation à des batraciens neufs de sang présentant ces formes atypiques a déterminé des infestations normales, mortelles dans les délais normaux. Il semble donc bien, dans les conditions de nos expériences, que l'hormone n'ait pas altéré le pouvoir pathogène intrinsèque de la souche, puisqu'elle retrouve son intégrité dès qu'elle est replacée dans un milieu favorable.

b) *Sur l'hôte :* La S.T.H. est difficilement supportée par les batraciens infestés. Elle n'est relativement bien tolérée que lorsqu'elle est administrée seule, en l'absence de toute alimentation. Sur cinq sujets ainsi traités (lots XXXI et XXXII), trois sont encore en vie plus de six mois après l'inoculation de sang infectieux ; toutefois, observons que, malgré la reprise de l'alimentation lors de la cessation du traitement, l'animal reste parfois amaigri et parvient alors difficilement à reprendre son poids normal. C'est le cas des exemplaires ayant reçu une dose totale d'hormone $\geqslant$ 80 U.-R./40 gr. Il faut donc tenir compte également de la dose totale inoculée, dont

le maximum ne devrait pas dépasser 60 à 65 U.-R./40 gr. de poids.

Les deux grenouilles ayant succombé ont vécu respectivement 77 et 145 jours. La première, traitée aux doses fortes et dont l'infestation était neutralisée, est vraisemblablement morte d'une tubulonéphrite d'origine hormonale ; la seconde, traitée aux doses faibles, n'a pu surmonter une rechute sévère, mais elle a présenté néanmoins une résistance inusitée, puisqu'elle a supporté pendant 60 jours (fait sans précédent) un parasitisme atteignant parfois 100 Trypanosomes par champ dans le sang circulant.

L'hormone a un pouvoir protecteur qui se manifeste encore plus de trois semaines après l'arrêt du traitement aux doses fortes : l'exemplaire XXXII, resté insensible à une réinoculation de sang infectieux 30 jours après la première infestation, en témoigne. A ce moment-là, en effet, cette résistance ne pouvait être imputée qu'à l'hormone, car elle ne s'est pas manifestée, ou avec beaucoup moins d'efficacité, chez les grenouilles traitées aux doses faibles, qui n'ont pu échapper à de graves rechutes deux mois et demi après leur primo-infestation.

Chez les animaux alimentés, le traitement à la S.T.H. se montre beaucoup plus toxique. Tous les batraciens de ce lot ont succombé, qu'ils aient ou non neutralisé leur infestation. Cette toxicité particulière de l'hormone sous l'influence de l'alimentation apparaît de façon significative chez les animaux traités aux doses fortes dont la longévité a rarement dépassé 20 à 22 jours. Il est possible qu'en présence de l'hormone, l'alimentation détermine la formation d'un catabolite toxique qui serait à l'origine des néphrites ou hépatites aiguës faisant succomber les animaux traités.

c) *Sur l'infestation :* Les doses fortes d'hormone ont pratiquement toujours neutralisé l'infestation, bien que de très rares parasites s'observent encore parfois dans le sang plus de six mois après l'inoculation de sang infectieux. Les doses faibles ont surtout considérablement augmenté la durée de la maladie qui passe ainsi du type aigu ou type chronique.

La chronicité ne provient pas d'un affaiblissement du virus (bien que ce caractère le rapproche du virus portugais qui donne aux grenouilles vertes des infections chroniques, d'une très longue durée) ; en effet, l'injection à des grenouilles vertes, neuves, de sang prélevé chez un batracien ayant fait une rechute trois mois après sa primo-infestation, les a fait succomber dans les délais habituels (1).

(1) Les causes déterminant les variations de virulence du trypanosome algérien et du trypanosome portugais n'ont jamais été élucidées. Ces souches se rencontrent dans la nature chez des animaux de même espèce (*Rana ridibunda*)

La chronicité est due plus vraisemblablement à l'action inhibitrice de l'hormone, conférant à l'infestation un taux modéré ou bas, puis à l'établissement progressif d'une défense organique qui, dans certains cas, s'installe solidement et peut se montrer efficace contre des rechutes ou infestations ultérieures. Elle traduit une résistance particulière de l'hôte, non observée à ce degré chez les témoins, et qui, lorsqu'elle parvient à neutraliser l'infestation, s'apparente à l'immunité. En réalité, la neutralisation est rarement totale, et la persistance de quelques rares Trypanosomes dans le sang pendant de longs mois montre qu'il ne s'agit pas d'une immunité véritable, mais plutôt de prémunition. La résistance d'un spécimen (XXVI b) à deux réinoculations successives, après quatre mois d'infestation, prouve que cette prémunition peut devenir très forte et ne se différencie plus guère alors d'un état d'immunité.

2) Effets dus à l'alimentation

C'est en raison de sa richesse en vitamines que nous avons choisi le foie comme base d'alimentation dans les expériences dont il est ici question.

Les batraciens nourris au foie cru (lot XXIX), à l'exception d'un seul ($XXIX_1$), ont fait des infestations massives, mortelles, dépassant parfois en intensité celle des témoins non alimentés. Toutefois, à la différence des témoins dont l'infestation suit une courbe progressivement ascendante, les spécimens nourris au foie font une première poussée évolutive qui régresse pour être suivie, un mois plus tard, d'une récurrence beaucoup plus intense que la montée initiale. L'animal y succombe, mais la longévité est sensiblement doublée par rapport aux témoins (60 à 100 jours au lieu de 30 à 50). Il y a donc à la fois stimulation du développement des Trypanosomes et renforcement de la résistance de l'hôte.

Un exemplaire de ce lot ($XXIX_1$) a d'abord réagi efficacement à la primo-infestation et à la première rechute ; mais, six mois d'infestation chronique ont fini par altérer son état général. A cette

et elles sont transmises cycliquement par le même hôte vecteur (*Helobdella algira*). E. Brumpt (1924) a démontré que la virulence variable des souches ne dépendait pas du vecteur, dont certaines races géographiques auraient pu se montrer plus ou moins réceptives : des passages effectués, dans des conditions identiques, sur un élevage neuf d'Helobdelles, ont montré que les virus n'avaient pas été modifiés et conservaient leurs propriétés respectives sur les animaux sensibles.

Si, dans nos expériences, la chronicité traduit un affaiblissement passager de la virulence, dû aux modifications apportées par l'hormone au milieu intérieur de l'hôte, on peut se demander si de nombreux passages, effectués à partir de grenouilles constamment traitées à la S.T.H., n'entraîneraient pas une atténuation définitive de la virulence de la souche algérienne.

déficience physique correspond un accroissement de plus en plus sensible des jeunes formes dans le sang (6, 10, puis 30 par champ), auquel l'animal trop affaibli finira sans doute par succomber.

Dans nos expériences de 1953, une observation réalisée dans des conditions analogues nous a donné un résultat un peu différent : elle a été effectuée sur une grenouille verte, nourrie avec de la viande crue et non du foie (exempl. XXVI b, graph. V). L'animal est actuellement toujours vivant après neuf mois d'infestation. Son état général ne s'est pas altéré et un certain degré d'immunité s'est établi ; deux réinoculations successives, pratiquées quatre mois après l'infestation initiale, sont restées sans effet. L'animal est pratiquement guéri et solidement prémuni. Comme chez les batraciens traités aux doses doubles d'hormone, les Trypanosomes sont demeurés pendant de longs mois dans le sang périphérique à un taux très bas. Ce n'est qu'après le 8e mois qu'ils semblent avoir totalement disparu.

Un état de prémunition peut donc également s'organiser chez l'hôte à la faveur du facteur alimentaire, lui conférant soit une protection efficace contre des rechutes ou infestations ultérieures, soit une simple augmentation de la longévité. Mais il dépend de la nature du régime administré : les expériences faites avec du foie cru semblent prouver que l'action stimulatrice due à cet aliment est plus favorable à la multiplication des parasites qu'à la défense de l'hôte, alors que la nourriture carnée exalte davantage la résistance de l'animal. C'est pourquoi, après la mort des témoins et l'arrêt des traitements à la S.T.H., nous avons nourri les survivants avec des repas alternés de viande crue et de larves de Chironomes, plus proches de l'alimentation naturelle.

Ce rôle de la nourriture nous semble expliquer en partie l'observation faite par E. Brumpt, dans la 2e édition de son *Précis de Parasitologie* (1913), à propos de la pathogénicité de la souche algérienne du *T. inopinatum :* « Cette trypanosomose, non mortelle pour les grenouilles vertes et rousses d'Algérie, est toujours mortelle pour les grenouilles vertes et rousses de France, malgré une défense phagocytaire intense. »

La différence de comportement de ces races géographiques tient sans doute à ce que les grenouilles d'Algérie sont spontanément parasitées, alors que celles de France sont toujours indemnes et ne peuvent être infestées qu'expérimentalement. Les premières s'alimentent dans la nature et bénéficient ainsi d'une nourriture strictement adaptée à leurs besoins. On peut supposer que la prémunition qu'elles acquièrent est nécessairement plus constante et durable que celle obtenue chez nos animaux d'expériences avec une

alimentation de fortune. D'autre part, parmi les batraciens spontanément infestés, ceux qui meurent précocement échappent pour la plupart aux investigations qui ne font état, de ce fait, que des grenouilles qui survivent et possèdent l'immunité préventive, conférée par une alimentation régulière, après plusieurs mois d'infestation.

3) Effets combinés de l'alimentation et de la S.T.H.

On constate chez les spécimens ainsi traités des modalités très diverses d'infestation quant à la durée et à la virulence. Elles s'expliquent peut-être si l'on admet que certains principes alimentaires favorisent le développement des Trypanosomes. L'effet stimulateur du foie nous avait paru à cet égard assez significatif (graph. III). On se trouverait alors en présence d'effets antagonistes, stimulateur dû au foie, inhibiteur dû à l'hormone, influencés en outre par les réactions individuelles de l'hôte ; d'où la difficulté de l'interprétation. On observe dans l'ensemble une atténuation des courbes par rapport aux témoins et, après la substitution au foie de nourriture carnée, une neutralisation progressive des infestations, quelle que soit la dose d'hormone administrée.

Une nourriture appropriée, jointe à la S.T.H., pourraient donc additionner leurs effets si l'administration d'aliments en cours de traitement ne sensibilisait les animaux infestés aux effets toxiques de l'hormone. De fait, malgré des survies parfois assez longues (max. 135 jours), tous les spécimens de ce lot ont succombé, et, dans nos précédentes expériences (graph. V), les cinq exemplaires traités aux doses fortes et nourris pendant le traitement, bien qu'ayant neutralisé leur infestation, ont succombé également, en moins de 22 jours, aux lésions spécifiques de l'hormone.

Conclusion et Résumé

La S.T.H. a une action réelle, inhibitrice, sur le développement du *Trypanosoma inopinatum* chez l'hôte vertébré.

Pour que l'inhibition soit sub-totale, il faut administrer l'hormone à la dose de 10 U.-R. pour 40 gr. de poids toutes les 48 heures. Cette dose neutralisante protège l'animal contre les rechutes.

Inoculée à un taux deux fois moindre, même pendant une période plus longue, l'hormone ne produit plus qu'une inhibition temporaire ; elle ne met pas à l'abri de rechutes tardives et quelquefois mortelles.

Les traitements préventifs s'avèrent inutiles pour le *T. inopinatum* qui se développe lentement, et dangereux pour l'hôte en augmentant la dose totale injectée. L'hormone est, en effet, difficilement tolérée quand la dose totale administrée dépasse 80 U.-R. par 40 gr. de poids. Elle détermine des lésions essentielles sur certains organes (reins, foie).

Cette toxicité de la S.T.H. paraît encore accrue quand l'alimentation est donnée en cours de traitement. L'animal sensibilisé succombe dans des délais variables, généralement d'autant plus courts que la dose d'hormone injectée est plus forte.

Pour être efficace, le traitement à la S.T.H. doit donc être brutal et de courte durée ; pour limiter ses effets toxiques, le sujet doit être gardé à jeun pendant toute la durée de ce traitement.

En revanche, pour prolonger l'effet neutralisant après cessation du traitement, l'animal doit être soutenu par une alimentation régulière, riche en protéines, aussi proche que possible de l'alimentation naturelle. Ainsi, se substitue peu à peu aux effets protecteurs de l'hormone un état de résistance très proche de l'immunité.

Les sujets infestés, régulièrement alimentés, parviennent aussi parfois à neutraliser leur infestation sans le secours d'une thérapeutique particulière ; un certain degré d'immunité peut se manifester, mais requiert toujours plusieurs mois pour pouvoir s'instaurer ; il dépend essentiellement du choix du régime alimentaire : le foie cru, riche en vitamines, paraît stimuler davantage la division des Trypanosomes que les réactions défensives de l'organisme. La nourriture carnée ne semble pas entraîner cette exaltation de la virulence ; dans un cas, elle a permis l'acheminement vers un état de résistance suffisant pour faire échec à une infestation stabilisée depuis plus de neuf fois et finalement neutralisée, ainsi qu'à deux réinoculations.

En conclusion de ces observations, on voit que le traitement à l'hormone, ou l'administration régulière d'un régime alimentaire approprié, aboutissent à des effets sensiblement identiques, à savoir soit une inhibition temporaire de l'infestation, n'empêchant pas les rechutes, mais avec augmentation souvent considérable de la longévité, soit une neutralisation apparemment totale du parasitisme aboutissant à un état de prémunition protégeant l'animal contre toute réinfestation. Il est vraisemblable que cet état réfractaire puisse s'acquérir dans la nature, au voisinage des gîtes infestés, ce qui nous paraît expliquer la résistance particulière des grenouilles vertes d'Algérie à la souche indigène du *T. inopinatum*.

Précisons que l'action de la S.T.H. sur les Trypanosomes n'a pu

altérer le pouvoir pathogène intrinsèque de la souche ; des passages effectués à partir de batraciens partiellement guéris sur des grenouilles neuves ont toujours déterminé des infestations mortelles.

Bibliographie

Brumpt (E.). — Rôle pathogène et mode de transmission du *Trypanosoma inopinatum*. Mode d'inoculation d'autres trypanosomes. *C.R. Soc. Biol.*, LXI, 1906, 167.

— Immunité partielle dans les infections à *Trypanosoma cruzi* ; transmission de ce trypanosome par *Cimex rotundatus*. Rôle régulateur des hôtes intermédiaires. *Bull. Soc. Path. exot.*, VI, 1913.

— *Précis de Parasitologie*, 2e édition, Paris, 1913, Masson et Cie édit.

— *Le Trypanosoma rhodesiense*. Faits et hypothèses concernant son individualité. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, II, 1924, 254.

França (C.). — Le cycle évolutif des trypanosomes de la grenouille (*T. costatum, T. rotatorium* et *T. inopinatum*). *Bull. Soc. portug. Sciences nat.*, I. 1908, fasc. 4.

— Sur la relation ontogénique entre les grands et les petits trypanosomes de la grenouille. *C.R. Soc. Biol.*, LXX, 1911, 978.

— Le *Trypanosoma inopinatum*. *Arch. f. Protistenkunde*, 1914.

Galliard (H.), Buttner (A.) et Bourcart (N.). — Effet de l'hormone somatotrope sur une trypanosome mortelle pour *Rana esculenta* L. due au *Trypanosoma inopinatum* Sergent, 1904 (souche algérienne). *C.R. Séa. Soc. Biol.*, CXLVII, 1953, 1695.

— et Lapierre (J.). — Effets neutralisants de la somatotrophine hypophysaire dans les infections à *Plasmodium berghei* chez la souris. *C.R. Séa. Acad. Sci.*, 237, 1953, 477.

— — et Mubard (J.). — Inhibition de l'infection à *Plasmodium berghei* chez la souris et le rat par l'hormone hypophysaire de croissance (S.T.H.). *Ann. Paras.*, XXIX, 1954, 3.

Grassé (P.-P.). — *Traité de Zoologie*. Anatomie systématique, Biologie, Phylogénie, Protozoaires. Généralités, Flagellés, t. I, fasc. 1er, 1952, 631.

Roubaud (E.). — Relations bio-géographiques des glossines et des trypanosomes. *Bull. Soc. Path. exot.*, VI, 1913, 28.

— Evolution comparée des trypanosomes pathogènes chez les glossines. *Bull. Soc. Path. exot.*, VI, 1913, 435.

Sergent (Ed. et Et.). — Sur un trypanosome nouveau, parasite de la grenouille verte. *C.R. Soc. Biol.*, LVI, 1904, 122.

Wenyon (C. M.). — *Protozoology*, Londres, 1926, 595.

CONTRIBUTION A LA CONNAISSANCE DE LA BIOLOGIE DES *TRICHOMONAS*. — II. DIFFÉRENCIATION DE *T. MICROTI* WENRICH ET SAXE, 1950 ET DE *T. INTESTINALIS* LEUCKART 1879, PAR LEURS CARACTÈRES BIOLOGIQUES

Par **Tsch. SIMITCH, Z. PETROVITCH** et **T. LEPECH**

Sous le nom de *Trichomonas microti*, Wenrich et Saxe ont décrit en 1950 une nouvelle espèce de *Trichomonas*, trouvée dans le contenu cæcal d'un *Microtus pennsylvanicus*.

D'après ces auteurs, *T. microti* se distinguait de *T. intestinalis* principalement par les caractères suivants : la taille et la forme du corps du flagellé, la longueur de la membrane ondulante et le nombre des flagelles antérieurs libres. La longueur du corps de *T. microti* varie entre 4 et 8 μ (moyenne 5,7) et celle de *T. intestinalis* entre 5 et 9 μ (moyenne 7,1). *T. microti* est plus épais que *T. intestinalis*, par suite de la plus grande convexité dorsale de son corps. Le flagelle de la membrane ondulante de *T. microti*, étant plus court que celui de *T. intestinalis*, ne fait pas plus de 3 à 5 replis et n'atteint pas la partie postérieure du corps, comme c'est toujours le cas chez *T. intestinalis*. *T. microti* possède toujours quatre flagelles antérieurs libres, tandis que *T. intestinalis* en a habituellement cinq. Chez *T. microti*, les quatre flagelles libres partent d'un seul blépharoplaste, tandis que les exemplaires de *T. intestinalis* à cinq flagelles en ont deux. Dans ce cas, quatre flagelles prennent la naissance à partir d'un blépharoplaste commun, tandis que le 5e part d'un petit blépharoplaste accessoire.

En dehors de *M. pennsylvanicus*, Wenrich et Saxe ont trouvé la même espèce de *Trichomonas* chez la souris blanche (*Peromyscus leucopus*), chez le rat (*Rattus norvegicus*) et chez le hamster (*Mesocricetus auratus*). D'autre part, ils ont expérimentalement infecté avec ce flagellé le rat (*R. norvegicus*) et le jeune cobaye. Cependant, ils n'ont pas réussi à transmettre cette espèce à l'homme.

Dans deux notes, publiées dans ces *Annales* (tome XXVI, 1951, et tome XXVII, 1952), nous avons confirmé la présence de *T. microti*

chez la souris blanche de Belgrade et nous avons étudié sa biologie *in vitro* chez différents animaux de laboratoire et chez l'homme. A la suite de ces recherches, nous sommes arrivés à la conclusion : 1° que, dans la nature, *T. microti* se conserve seulement chez la souris ; 2° que ce rongeur n'est pas porteur de *T. intestinalis* et ne s'infeste pas expérimentalement par ce *Trichomonas*. Par conséquent, la souris, contrairement au rat, n'est pas le réservoir de virus de ce dernier flagellé. Chez le rat blanc, fréquemment infesté par *T. intestinalis*, nous n'avons pas trouvé *T. microti*, bien que ce rongeur s'infeste expérimentalement très facilement avec ce *Trichomonas* ; 3° avec *T. microti*, outre le rat, nous avons infesté expérimentalement, le chien, le cobaye et le spermophile (*Citellus citellus*). Quant à l'homme, l'infection par *T. microti* n'a pas réussi dans deux cas sur deux ; 4° biologiquement, *T. microti* se distingue de *T. intestinalis* par le polymorphisme et la division multiple des flagellés de cultures, entretenues à une température au-dessous de 25° C. Dans les cultures, maintenues entre 22 et 25° C., seul *T. microti* présente des formes géantes avec division multiple.

Ce travail fait suite à nos recherches sur les hôtes naturels et expérimentaux de *T. microti* ; son but est de trouver un hôte grâce auquel on pourrait facilement et avec sûreté distinguer ce *Trichomonas* de *T. intestinalis*.

I) Hôtes naturels de T. microti

T. microti a été recherché chez la souris blanche, la souris domestique et la souris sauvage, chez le rat blanc, chez le rat sauvage (*R. norvegicus*), chez le cobaye, chez *Citellus citellus* et chez le chien.

Souris blanche — La recherche de *T. microti* a été effectuée chez 76 souris blanches, appartenant à quatre lots différents. Par culture du contenu cæcal des animaux sacrifiés, nous avons isolé 12 souches de *T. microti*. L'identification de ce flagellé a été faite par des méthodes biologiques, confirmées par passage du parasite sur l'homme et sur le poulet. En effet, dans les cultures, entretenues à une température inférieure à 25° C., nous avons observé, chez les 12 souches, des formes géantes avec division multiple. D'autre part, nous n'avons pas réussi à infester l'homme et le poulet avec les formes de culture de ces 12 souches, alors qu'ils s'infestent très facilement avec *T. intestinalis*. Nous avons conclu des résultats de ces recherches que nos 12 souches de *Trichomonas* appartenaient

à l'espèce *microti* et non à *T. intestinalis*. Cependant, contrairement à nos conclusions antérieures, expérimentalement, ce rongeur s'infeste facilement avec *T. intestinalis*, comme nous le verrons dans le deuxième chapitre. La culture du contenu cæcal de 8 souris domestiques et 14 souris sauvages n'a permis d'isoler ni *T. microti*, ni *T. intestinalis*.

Rat blanc — Par culture du contenu cæcal de 54 rats blancs, sacrifiés en vue de la recherche des *Trichomonas*, nous avons isolé 39 souches, identifiées par des méthodes biologiques comme appartenant à l'espèce *intestinalis*. Ainsi, toutes les souches de *Trichomonas*, isolées par nous du rat blanc, appartenaient à *T. intestinalis* et non à *T. microti*. Cependant, expérimentalement, ce rongeur, comme nous le verrons ultérieurement, s'infeste facilement par *T. microti*.

Rat sauvage — Par culture du contenu cæcal de 23 rats sauvages, nous avons isolé 9 souches de *Trichomonas*, que nous avons identifiées également comme appartenant à l'espèce *intestinalis*.

Citellus citellus — Par culture du contenu cæcal de 300 *Citellus citellus*, sacrifiés pour l'étude de leurs parasites intestinaux, nous n'avons pu isoler ni *T. microti*, ni *T. intestinalis*. De ces recherches, nous avons conclu que ce rongeur n'était pas le porteur naturel de *T. microti* et de *T. intestinalis* (1). Cependant, ce rongeur, comme nous le verrons ultérieurement, s'infeste très facilement avec ces deux espèces de *Trichomonas*.

Cobaye — Par culture de 42 contenus cæcaux de cobayes, nous n'avons pu isoler ni *T. microti*, ni *T. intestinalis*. De ces recherches, nous avons conclu que cet animal n'était pas le porteur naturel de *T. microti* ou de *T. intestinalis*. Cependant, expérimentalement, ce rongeur, comme nous le verrons dans le suivant chapitre, s'infeste facilement par ces deux espèces de *Trichomonas*.

Chien — Par l'étude biologique de deux souches de *Trichomonas*, isolées par culture de lavage rectal de deux chiens infestés spontanément, nous avons établi que l'une et l'autre appartenaient à *T. intestinalis* et non à *T. microti*. Cependant, expérimentalement comme nous le savons, cet animal s'infeste aussi bien avec *T. microti* qu'avec *T. intestinalis*.

(1) Un *Trichomonas*, trouvé chez trois *Citellus* en hibernation, provenait d'une infection expérimentale et non d'une infestation spontanée.

II) Infection expérimentale de différents hôtes par T. microti et T. intestinalis

Pour cette étude, les hôtes expérimentaux choisis ont été les suivants : Souris blanche, Rat blanc, Cobaye, *Citellus citellus*, Chien, Chat, Poulet et l'Homme.

Souris blanche — Contrairement à nos conclusions antérieures, ce rongeur s'infecte aussi facilement, par voie buccale, avec *T. intestinalis* qu'avec *T. microti*. L'infection de la souris par *T. intestinalis* est de même durée qu'avec *T. microti*. Cependant, quoique *T. microti* puisse être distingué de *T. intestinalis*, en vertu des caractères biologiques des flagellés de culture, la souris n'est pas un hôte convenable pour la différenciation de ces deux *Trichomonas*.

Rat blanc — Ce rongeur n'est pas davantage un hôte convenable pour la différenciation de *T. microti* de *T. intestinalis*, étant donné qu'il est très souvent spontanément infecté par cette dernière espèce.

Cobaye — Cet animal s'infeste avec *T. microti* et *T. intestinalis* non seulement par inoculation intra-cæcale, mais également par la bouche. Douze cobayes, auxquels on a inoculé *T. microti* directement dans le cæcum, se sont tous infestés. Sur huit cobayes, auxquels on a donné ce *Trichomonas* par la bouche, cinq se sont infestés. Cependant, il semble que le cobaye soit moins sensible à *T. intestinalis* qu'à *T. microti*. En effet, par inoculation intra-cæcale de *T. intestinalis*, on a infecté 3 cobayes sur 5, tandis que, par voie buccale, l'infestation réussissait chez 2 animaux seulement sur 7. Des résultats de ces expériences, on peut conclure que le cobaye n'est pas non plus animal favorable pour la différenciation de *T. microti* et de *T. intestinalis*.

Chien — Cet animal, comme nous l'avons vu dans l'un de nos travaux antérieurs, s'infeste aussi facilement avec *T. microti* qu'avec *T. intestinalis*. Les animaux guéris d'une infection à *T. intestinalis* se réinfectent par *T. microti* et inversement. Cependant, ce caractère ne peut être pris en considération pour la différenciation de ces deux espèces, étant donné que les chiens guéris d'une infection à *T. intestinalis* ou à *T. microti* se réinfectent souvent, même avec des souches homologues. Par conséquent, le chien n'est pas non plus l'animal convenable pour différencier *T. microti* de *T. intestinalis*.

Chat — Nous avons réussi à infester plusieurs jeunes chats avec *T. microti*, aussi bien par la bouche que par inoculation des parasites directement dans le rectum. L'infection du chat par *T. microti* ne se distingue nullement de celle produite par *T. intestinalis*. D'un autre côté, les chats qui se sont débarrassés de *T. microti*, se réinfectent par *T. intestinalis* et inversement. Par conséquent, cet animal ne peut être utilisé pour la différenciation de *T. microti* et de *T. intestinalis*.

Citellus citellus — Ce rongeur s'infecte très facilement par *T. microti* et *T. intestinalis*, non seulement par inoculation des parasites directement dans le rectum, mais aussi par la bouche. L'infection du *Citellus* par ces deux espèces de *Trichomonas* se prolonge pendant plusieurs mois, quel que soit l'âge de l'animal infecté. Ce rongeur, quoique très sensible à l'infection par *Trichomonas*, ne peut pas non plus être employé pour la différenciation de *T. microti* et de *T. intestinalis*.

Poulet — Tandis que le jeune poulet s'infecte très facilement par *T. intestinalis*, aussi bien par la bouche que par inoculation dans le rectum, il se montre réfractaire au *T. microti*. Dans nos expériences sur *T. microti*, nous disposions de 12 poulets, âgés de 6-12 jours. Mais bien que ces poulets aient reçu un grand nombre de parasites à la fois par la bouche et par le rectum, aucun d'eux n'a été trouvé infecté par cette espèce de *Trichomonas*. Nous concluons de ces expériences que le jeune poulet est un animal de choix pour la différenciation de *T. microti* et de *T. intestinalis*.

L'Homme — Nos 12 souches de *T. microti*, isolées de souris blanches, ont fait l'objet de nos expériences sur l'homme. Le mélange des parasites de culture de ces 12 souches (une goutte de chaque souche) a été avalé par un volontaire. Etant donné que chez ce volontaire nous n'avons pas trouvé de parasites, ni à l'examen des selles fraîches, ni par coproculture pendant les dix jours suivants, nous avons conclu que nos 12 souches appartenaient à *T. microti*.

Discussion

La première question qui se pose eu égard à nos expériences est de savoir, si l'on *doit considérer* T. MICROTI *comme une espèce nouvelle ou seulement comme une variété de* T. INTESTINALIS ? D'après Wenrich et Saxe, qui ont décrit *T. microti*, la différence entre ce *Trichomonas* et *T. intestinalis* est basée, comme nous l'avons vu,

sur les caractères morphologiques : la taille et la forme du corps du flagellé, la longueur de la membrane ondulante, le nombre des flagelles antérieurs libres. Mais ces caractères, d'après notre opinion, ne sont pas assez constants pour qu'on puisse différencier avec certitude *T. microti* de *T. intestinalis*, étant donné qu'on les rencontre souvent chez les exemplaires typiques de cette dernière espèce, c'est-à-dire chez *T. intestinalis*. Nous avouons, que par les caractères mentionnés ci-dessus, nous ne sommes pas capables de différencier *T. microti* de *T. intestinalis*.

Mais, il en est tout autrement, si nous différencions ces parasites par les caractères biologiques. Parmi ceux-ci, il en est trois, qui sont tout à fait suffisants pour conclure que *T. microti* n'est pas une variété de *T. intestinalis*, mais une bonne espèce. Ces trois caractères se rapportent : au polymorphisme de *T. microti* dans les cultures, à leur entretien au-dessous de 25° C. et à l'impossibilité d'infecter par ce *Trichomonas* l'homme et le poulet, très sensibles à l'infection par *T. intestinalis*. Bien entendu, pour la différenciation de *T. microti* et de *T. intestinalis*, le poulet est l'animal de choix, étant donné que l'homme ne peut entrer en considération pour ces expériences.

Résumé

Ce travail se rapporte à l'étude des hôtes naturels et des hôtes expérimentaux de *T. microti*, ainsi qu'à la différenciation de ce *Trichomonas* de *T. intestinalis* par des caractères biologiques.

Par culture du contenu cæcal de 76 souris blanches, appartenant à 4 lots différents, nous avons isolé 12 souches de *Trichomonas* que nous avons identifiées, par les caractères biologiques, à *T. microti*. D'un autre côté, expérimentalement, ce rongeur a été infecté par *T. intestinalis*.

Par culture du contenu cæcal de 54 rats blancs et de 23 rats sauvages, nous avons isolé 48 souches de *Trichomonas*, que nous avons identifiées, par les caractères biologiques, à *T. intestinalis*. D'un autre côté, expérimentalement, ce rongeur a été facilement infecté par *T. microti*.

Par culture du contenu cæcal de 42 cobayes, nous n'avons pu trouver de *Trichomonas* du type *microti* ou *intestinalis*. Cependant 12 cobayes sur 12 ont été infestés expérimentalement par *T. microti* par inoculation des parasites directement dans le cæcum ; et, 5 cobayes sur 8 par la voie buccale. Par ailleurs, 3 cobayes sur 5 ont été infestés par *T. intestinalis*, par inoculation de parasites dans le cæcum, et 2 sur 7 seulement par la voie buccale.

Par culture du contenu cæcal de 300 *Citellus citellus*, nous n'avons pu trouver ni *T. microti*, ni *T. intestinalis*. Cependant, ce rongeur s'infecte facilement, soit par voie buccale, soit par inoculation de ces parasites dans le cæcum.

Le chien et le chat s'infectent par *T. microti* aussi facilement que par *T. intestinalis*. L'infection du chien et du chat par *T. microti* ne se différencie pas de celle produite par *T. intestinalis*.

Mais, tandis que le poulet s'infeste très facilement avec *T. intestinalis*, il n'a pas pu être infesté par *T. microti*. Par conséquent, le poulet est l'animal de choix pour la différenciation de *T. microti* et de *T. intestinalis*.

L'essai d'infestation d'un volontaire par 12 souches de *T. microti*, isolées de la souris blanche, n'a pas réussi.

La différenciation entre *T. microti* et *T. intestinalis* est basée sur les caractères suivants : le polymorphisme de *T. microti* dans les cultures, leur entretien au-dessous de 25° C. et l'impossibilité d'infester l'homme et le poulet par cette espèce de *Trichomonas*.

Bibliographie

1. Wenrich (H. D.) and Saxe (H.). — *Trichomonas microtis n. sp. J. of Parasitology*, 1950, p. 261-270.
2. Simitch (Tsch.) et Petrovich (Z.). — Contribution à la connaissance de la biologie des *Trichomonas*. I. Polymorphisme et division multiple de *T. microti* en culture. *Ann. Paras.*, XXVII, 1952, 373.
3. Simitch (Tsch.) et Teodorovitch. — Les parasites intestinaux de *Citellus citellus* de Yougoslavie au cours de l'hibernation et pendant la vie active de ce rongeur. *Ann. Parasit.*, XXVI, 1951, 387.

(*Institut de Parasitologie de l'Académie serbe des Sciences*
Directeur : Tsch. Simitch)

SUR LE CYCLE ÉVOLUTIF DES SPIRURIDES ET DE NÉMATODES AYANT UNE BIOLOGIE COMPARABLE

Valeur systématique des caractères biologiques (*suite*)

Par **Alain G. CHABAUD**

VIII. — *SICARIUS DIPTERUM* (Popowa 1927) (1)

Le 28 avril 1950, la dissection d'une grande Huppe, 778 N.F., au laboratoire Arago à Banyuls-sur-Mer (Pyrénées-Orientales), permet de récolter un mâle et trois femelles de *Sicarius dipterum* (Popowa 1927), ainsi que trois mâles et cinq femelles de *Hadjelia truncata* (Creplin 1825), qui vivaient ensemble sous la muqueuse du gésier.

Les mâles, deux femelles entières et les extrémités céphaliques des autres femelles sont fixés pour une étude morphologique. Les extrémités postérieures des six femelles restantes sont alors broyées avec du pain mouillé. Le broyat est déposé à la surface de petits tubes emplis de coton mouillé ; on maintient ainsi, pendant plusieurs jours, une zone humide recherchée par les Arthropodes, et, de cette façon, ceux-ci ingèrent la presque totalité des œufs disponibles.

Une telle méthode d'infestation est rendue nécessaire par le petit nombre des femelles récoltées, mais présente un inconvénient sérieux : les Arthropodes s'infestent pendant plusieurs jours consécutifs et ingèrent des œufs immatures. La vitesse du développement ne peut donc être établie que de façon approximative. En outre, les insectes n'ont pas pu être conservés à une température constante pendant toute la durée de l'expérience ; le chiffre de 20° ne peut être donné qu'à titre indicatif.

La présence de larves d'espèces différentes chez le même hôte ne paraît pas modifier le cycle, et l'attribution de chaque stade larvaire à l'une des deux espèces de Nématodes est rendue facile par l'étude morphologique des stades préparant une mue.

(1) Ce cycle évolutif, et celui d'*Hadjelia truncata* qui est traité à la suite, ont fait l'objet d'une note préliminaire (Chabaud, 1951*a*).

Les Arthropodes dont les noms suivent sont restés négatifs :

Crustacés (1) :

Diaptomus sp. (environ 20 exemplaires).
Ostracodes sp. (environ 20 exemplaires).
Gammarides sp. (4 exemplaires).
Porcellio sp. (3 exemplaires).

Diplopodes :

Glomeris sp. (3 exemplaires).
Iulus sp. (3 exemplaires).

Insectes :

Forficula auricularia (3 exemplaires).
Dermaptère sp. (4 exemplaires).
Loboptera decipiens Germ. (5 exemplaires).
Opatrum sabulosum L. (5 exemplaires).
Scaurus sp. (1 exemplaire).

Quatre espèces de Ténébrionides (2) ont permis le développement de *S. dipterum* jusqu'au troisième stade larvaire : *A. sericea* Ol., *A. jurinei* Sol, var. *marmottani* Bris., *Phylan abbreviatus* Ol. et *Tentyria mucronata* Stev. :

Asida : 2 exemplaires positifs sur 7,
Phylan : 7 exemplaires positifs sur 18,
Tentyria : 1 exemplaire positif sur 1.

et trois espèces le développement de *H. truncata : A. sericea, A. jurinei marmottani* et *P. abbreviatus :*

Asida : 6 exemplaires positifs sur 7,
Phylan : 9 exemplaires positifs sur 18.

Quel que soit l'hôte, il paraît n'y avoir aucune différence dans l'allure du développement. Dans les lignes qui suivent, nous traiterons le cycle de *Sicarius dipterum* et nous reviendrons sur *Hadjelia truncata* au chapitre IX.

A. Biologie. — Les larves pénètrent rapidement dans la cavité générale du Coléoptère et grandissent très lentement jusqu'à la première mue : longues de 190 μ le 5e jour, de 230 μ le 11e jour, elles atteignent 250 μ le 20e jour. La première mue survient aux environs

(1) Une petite quantité du mélange pain-œufs a été déposée dans un cristallisoir pour infester les crustacés aquatiques.
(2) Détermination J. Théodoridès.

du 20e jour et la larve du deuxième stade incomplètement dégagée de la mue mesure déjà 480 µ. La croissance devient alors très rapide ; les larves triplent leur longueur en une dizaine de jours et atteignent 1.500 µ le 31e jour.

La seconde mue a lieu à ce moment, et la larve du troisième stade ne semble subir aucune croissance supplémentaire tant qu'elle reste chez l'insecte.

Les larves restent libres dans la cavité abdominale très longtemps ; ce n'est que vers la fin du deuxième stade qu'on commence à en observer quelques-unes incluses dans de petites capsules à parois très minces, situées généralement contre l'intestin.

Environ 10 larves prélevées le 41e jour après le début de l'infestation ont été ingérées par un coq adulte mais n'ont pas été retrouvées à l'autopsie de cet animal.

B. Morphologie. — *Premier stade larvaire :* Le premier stade larvaire, pourvu d'une épine céphalique, se reconnaît assez facilement par l'aspect de la queue qui est arrondie et munie d'une couronne d'environ quinze épines subterminales (fig. 21 et 22 C). La larve subit une croissance lente et de faible amplitude mais la structure interne s'organise progressivement. Le 5e jour, sur une larve longue de 190 µ, l'œsophage commence à apparaître et mesure 95 µ. Le 9e jour, la larve, longue de 220-240 µ (fig. 21) et large de 15 µ, présente une ampoule excrétrice à 75 µ de l'apex. Le tube digestif comprend une région œsophagienne longue de 115 µ, une région intestinale formée de grandes cellules allongées et une région rectale granuleuse. La queue mesure 30 µ. Cette larve subit peu de modifications jusqu'à la première mue qui survient aux environs du 20e jour.

Deuxième stade larvaire : Au cours du second stade larvaire, la longueur de la larve passe rapidement de 400 à 1.500 µ.

Une larve jeune (fig. 22 D), qui n'est pas encore complètement dégagée de la mue précédente, est longue de 470 µ ; la largeur atteint 50 µ au niveau de l'ampoule rectale. La région pharyngienne est longue de 12 µ, l'œsophage se termine à 210 µ de l'extrémité antérieure ; l'anneau nerveux et le pore excréteur, respectivement à 75 et à 100 µ de l'apex, sont entourés de nombreux ganglions, dont les plus gros sont latéraux, ventraux et postéro-ventraux (fig. 22 A, B). Il existe une ébauche génitale située sur la face ventrale de l'intestin, à 70 µ au-dessus de l'anus. L'ampoule rectale, haute de 35 µ, est entourée par trois grosses glandes (une dorsale et deux latérales). La queue (fig. 22 C) est courte (55 µ) et pointue ; elle se termine par une extrémité mousse sans aucun ornement.

Les larves plus âgées s'allongent rapidement sans que la largeur maxima soit très modifiée. Une larve longue de 650 µ donne les chiffres suivants :

largeur moyenne 45 μ ; pharynx 12 μ ; fin œsophage 230 μ ; anneau nerveux à 80 μ et pore excréteur à 105 μ de l'apex. Sur les lignes latérales, à 40 μ de l'extrémité antérieure, existe une paire de formations ampullaires (fig. 22 A) de nature indéterminée. (Ces organes persistent sur le troisième stade larvaire et ne correspondent pas aux diérides, qui sont

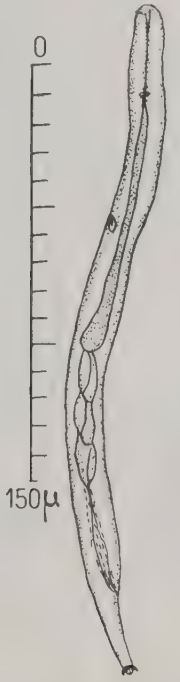


FIG. 21. — *Sicarius diplerum*. Larve du premier stade extraite de *Phylan abbreviatus* le 11e jour. Vue latérale.

légèrement postérieures). Ebauche génitale antérieure de 100 μ à l'anus. Queue longue de 60 μ.

Très rapidement ensuite, la larve du deuxième stade atteint une longueur de 1.200-1.500 μ et présente sous la cuticule tous les caractères de la larve du troisième stade. Elle reste en latence quelques jours et mue aux environs du 30e jour.

Troisième stade larvaire : La morphologie du troisième stade larvaire ne paraît pas subir de modifications après la mue ; en particulier, la longueur totale est identique à celle de la larve de la fin du second stade et ne dépasse pas 1.500 μ.

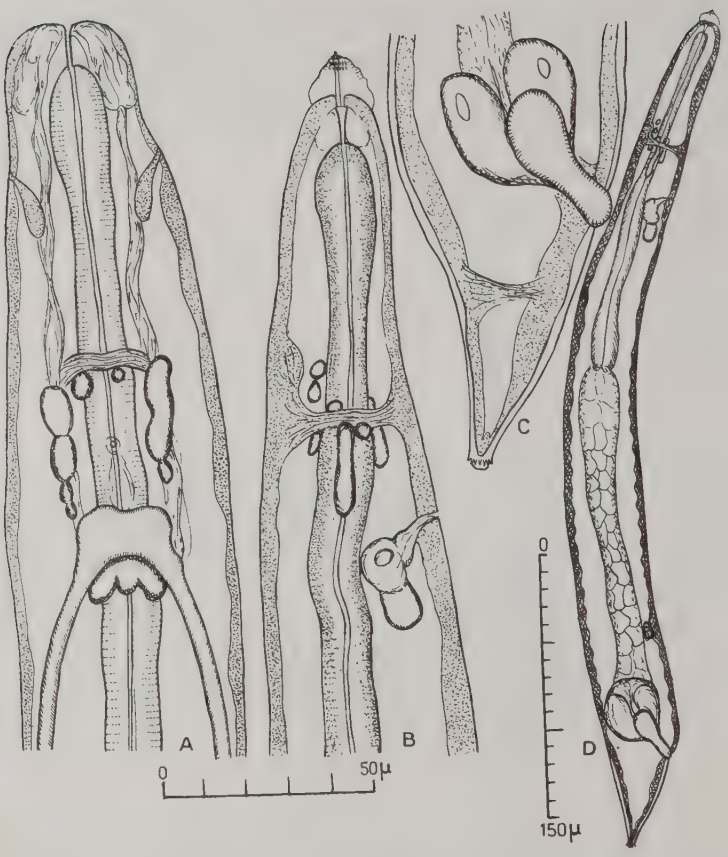


Fig. 22. — *Sicarius dipterum*. Larve du deuxième stade. A, Larve longue de 650 µ, extraite le 24e jour de *P. abbreviatus*. Extrémité antérieure ; vue ventrale. — B, C, D, Larve longue de 480 µ extraite le 24e jour de *Asida sericea* ; la dépouille du premier stade larvaire reste adhérente aux extrémités antérieure et postérieure. — B, Extrémité antérieure ; vue latérale. — C, Extrémité postérieure : vue latérale. (Les ornements de la pointe caudale appartiennent à la dépouille larvaire du premier stade). — D, Vue latérale. A, B, C, échelle 0-50 µ ; D, échelle 0-150 µ.

Large de 48-55 µ, le corps est recouvert d'une cuticule épaisse à stries transversales espacées de 2 µ. L'extrémité céphalique (fig. 23 C) présente déjà presque tous les caractères de l'adulte (fig. 24). La bouche, allongée dans le sens ventro-dorsal, est limitée par deux pseudo-lèvres latérales

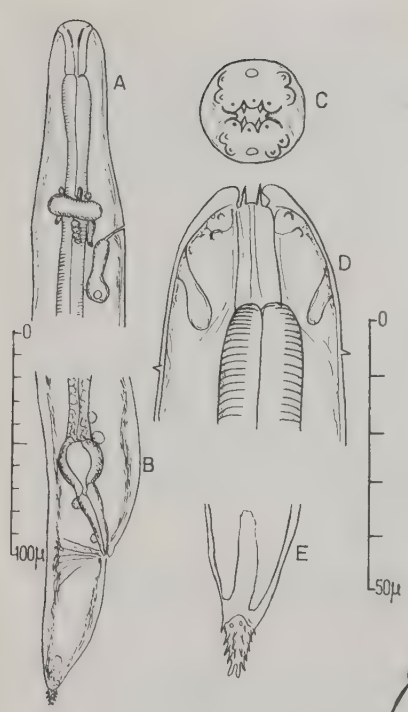


FIG. 23. — *Sicarius dipterum*. Larves du troisième stade extraites du 31 au 37e jour de *P. abbreviatus*. A, Extrémité antérieure ; vue latérale. — B, Extrémité postérieure ; vue latérale. — C, Extrémité céphalique ; vue apicale. — D, Extrémité céphalique ; vue dorsale. — E, Extrémité postérieure ; vue ventrale. A, B, échelle 0-100 µ ; C, D, E, échelle 0-50 µ.

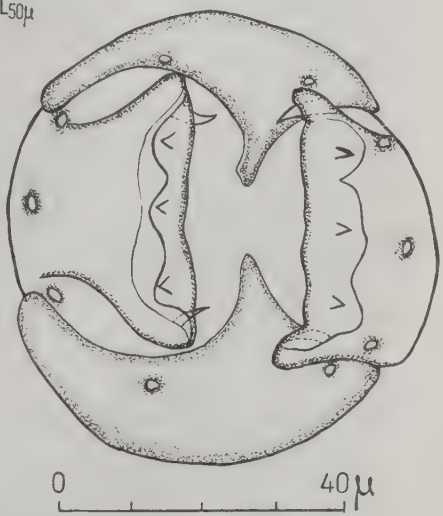


FIG. 24. — *Sicarius dipterum*. Adulte. Extrémité céphalique ; vue apicale.

et deux interlabia plus courtes. Les pseudo-lèvres sont trilobées et chaque lobe porte une des papilles du cycle interne. Les huit papilles du cycle

externe sont largement séparées les unes des autres, les paires latéro-médianes étant nettement postérieures aux paires médio-médianes. Les amphides sont en position latérale, légèrement antérieures au niveau des papilles latéro-médianes. La cavité buccale, profonde de 25 μ, est renforcée par deux paires de lames chitinoïdes, qui se terminent antérieurement en formant quatre dents aiguës rétractiles sur l'animal vivant. Les diérides (fig. 23 D) en pointe aiguë sont très antérieures, situées à 35-40 μ de l'apex. Les champs latéraux, bien marqués, sont larges de 17 μ ; les ailes latérales sont présentes mais sont très fines et peu saillantes. Une grande cellule excrétrice est en rapport avec un canal fin et rectiligne, qui s'ouvre à 105-110 μ de l'extrémité antérieure. Il existe dans cette zone de nombreux ganglions qui ont une disposition comparable à celle qui est réalisée chez la larve du deuxième stade (fig. 23 A). L'œsophage musculaire et l'œsophage glandulaire, de structure très différente, ont respectivement une longueur de 130 à 145 μ et de 480 à 645 μ. L'ébauche génitale a une position variable, qui correspond peut-être à une différence de sexes ; elle est parfois assez antérieure ; 110 μ en arrière de la fin de l'œsophage, parfois nettement plus postérieure, à 220-245 μ derrière l'œsophage. La queue (fig. 23 B, E), longue de 65-70 μ, est caractérisée par un cône épineux haut de 12 μ. Les épines terminales sont plus grosses et à pointe mousse.

Discussion. — Les cycles évolutifs qui sont connus jusqu'à maintenant dans la sous-famille des *Habronematinæ* se rapportent à deux types très différents :

1° Genre *Habronema*. Trois espèces parasites d'Equidés ont été bien étudées, en particulier par Ransom (1911-1913), Hill (1918), Roubaud et Descazeaux (1921-1922). Ces derniers auteurs, surtout, ont montré que le cycle évolutif de ces parasites présente les analogies les plus étroites avec les *Filarioïdea* : *a*) les hôtes intermédiaires sont des Diptères Brachycères ; *b*) l'évolution chez l'hôte intermédiaire est rapide (environ 16 jours) ; *c*) le développement du deuxième stade larvaire est intracellulaire [tubes de Malpighi pour *H. megastoma* (Rud. 1819), ou cellules graisseuses pour *H. muscæ* (Carter 1861) et *H. microstomum* (Schneider 1866)] ; *d*) le début du second stade larvaire revêt la forme « en saucisse » ; *e*) le troisième stade larvaire perfore ses enveloppes, gagne activement le labium et se libère par effraction de la membrane d'articulation des labelles.

2° Genre *Seurocyrnea*. E. Cram, en 1931, a élucidé le cycle évolutif de l'espèce *S. colini* (Cram 1927), parasite de Phasianidés. La larve évolue en une vingtaine de jours dans la cavité générale de *Blatella germanica* et son développement présente tous les caractères habituels aux *Spiruroïdea*. Elle remarque cependant un fait assez

rare dans ce groupe : la larve ne s'encapsule pas, mais reste libre dans la cavité générale de la Blatte pendant toute l'évolution.

S. dipterum a été décrit par Popowa (1927) dans le cadre du genre *Habronema*. H. C. Li (1934), ayant retrouvé cette espèce en Chine, a créé pour elle le nouveau genre *Sicarius*, en s'appuyant sur les caractères anatomiques de l'extrémité céphalique et sur les épines qui ornent la queue de la femelle (1).

Bien que la création de ce nouveau genre paraisse parfaitement justifiée, il n'en reste pas moins que le genre *Sicarius* est très proche des *Habronema*. La persistance d'épines caudales chez la femelle peut être considérée comme un caractère larvaire résiduel (2), indiquant le caractère primitif du genre. Donc, d'un point de vue morphologique, le genre *Sicarius* pourrait être considéré comme intermédiaire entre les genres *Seurocyrnea* et *Habronema*.

La biologie de *Sicarius* ne montre cependant aucun caractère de transition entre les deux types évolutifs, mais se rapporte presque entièrement au genre *Seurocyrnea*. Nous avons signalé plus haut que les larves du troisième stade de *Sicarius* étaient parfois libres, parfois encapsulées dans un tissu très mince ; ce caractère est à rapprocher de la constatation faite par Cram pour *S. colini*. Une telle mobilité est inhabituelle pour des larves de Spirurides, et l'on pourrait peut-être envisager cette propriété comme un des éléments ancestraux qui ont conduit au cycle très spécialisé des *Habronema*, parasites d'Equidés (3).

La biologie des *Habronema*, parasites d'Oiseaux, est encore inconnue, mais Hsü et Chow (1938) ont signalé la présence de larves de *H. mansioni* Seurat 1914 (parasite de Falconiforme) encapsulées dans la paroi gastrique de Batraciens. Cette constatation jointe aux faits étudiés plus haut fait présumer un cycle simple du type *Spiruroidea*. On peut cependant espérer que l'étude biologique des *Habronema* d'Oiseaux et surtout des *Habronema* de Carnivores montreront quelques caractères de transition permettant de comprendre la filiation de deux types d'évolution aussi différents.

(1) La localisation intestinale du parasite proposée également dans la définition du genre ne semble pas avoir de valeur. Nos spécimens ont été récoltés sous la membrane du gésier, et l'intestin n'en contenait aucun.

(2) Cf. Cram 1927 : Diagnostic de la famille des *Desmidocercidæ*, p. 208.

(3) E. Cram (1931), en s'appuyant sur le cas de *Dispharynx spiralis* (Molin 1858), suggère que les larves de grande taille (3 mm.) restent libres, et que les larves plus petites sont encapsulées. Cela ne nous paraît pas être une règle générale : la larve de *Sicarius* ne mesure pas plus de 1,5 mm., et au contraire des larves de très grande taille, telles que celles de *Spirura* (15 mm.), sont incluses dans une capsule très épaisse.

IX. — *HADJELIA TRUNCATA* (Créplin 1825)

Les expériences sur ce Nématode, ayant été faites conjointement à celles qui concernent *Sicarius dipterum*, ont été exposées dans le chapitre précédent et nous n'y reviendrons pas.

A. Biologie. — Les larves qui traversent la paroi digestive du Coléoptère et pénètrent dans la cavité générale ne restent libres que peu de temps ; vers le huitième jour, on les trouve enfermées dans des capsules qui deviendront de plus en plus épaisses. Celles-ci sont, le plus souvent, localisées dans les tissus qui entourent l'hypopygium de l'insecte.

Le premier stade larvaire, qui s'étend sur une durée de 25 jours, ne donne lieu qu'à une croissance en longueur très limitée (de 260 à 325 μ), mais la larve s'épaissit de façon notable (la largeur moyenne croît de 15 à 25 μ). L'organisation interne de la larve, et en particulier la différenciation du tube digestif, s'effectue pendant cette période. La première mue a lieu aux environs du 25e jour, alors que la longueur totale est de 400 à 540 μ.

Le second stade larvaire peut se diviser en deux périodes : un premier temps, qui dure du 25e au 35e jour, donne lieu à une croissance rapide, liée à une organisation de l'anatomie interne avec différenciation rapide de tous les organes ; aux environs du 35e jour, la larve qui mesure environ 1.800 μ présente une organisation presque achevée. En dehors de quelques modifications de la région céphalique, l'édification de sa structure interne paraît achevée et il semble que la mue suivante doive être très prochaine. Cette seconde mue cependant ne survient qu'aux environs du 50e jour et, pendant toute la période intermédiaire, la longueur de la larve continue à croître rapidement, passant de 1,8 à 4 mm. La croissance ainsi réalisée porte essentiellement sur l'extrémité postérieure et la région œsophagienne est peu modifiée.

Le troisième stade larvaire apparaît aux environs du 50e jour et semble, aussitôt après la mue, entrer en diapause dans son pseudo-kyste, comme on le constate presque toujours chez les larves de Spirurides.

B. Morphologie. — *Premier stade larvaire :* Le premier stade larvaire est surtout caractérisé par une pointe caudale fine, ornée par 7 à 8 épines terminales, subégales (fig. 25 A et D). La tête porte une épine ventrale. Au 6e jour (fig. 25 B), la larve est longue de 260 μ et large de 15 μ. L'ébauche excrétrice est visible à 85 μ de l'apex ; la limite œsophago-

intestinale paraît être située légèrement en arrière de la partie moyenne du corps, à environ 140 μ de la bouche. L'évolution se fait de façon très progressive, pour arriver le 22e jour à des larves longues de 300 μ et larges de 25 μ (fig. 25 C), dont la structure est mieux définie. L'ampoule excrétrice est à 95 μ de l'extrémité céphalique ; l'œsophage, nettement distinct de l'intestin, est long de 140 μ. Les glandes rectales sont bien différenciées et l'anus est visible à 48 μ de la pointe caudale.

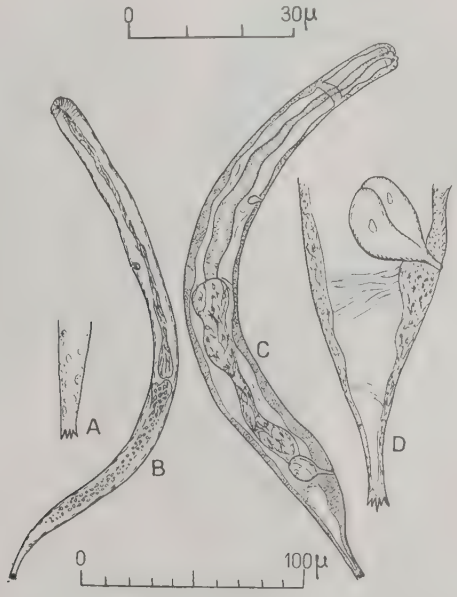


Fig. 25. — *Hadjelia truncata*. Larves du premier stade. A-B, Larve longue de 260 μ, extraite le 6e jour de *Asida sericea*. — A, Détail extrémité postérieure ; vue latérale. — B, Vue latérale. — C-D, Larve longue de 295 μ, extraite le 22e jour de *Asida sericea*. — C, Vue latérale. — D, Détail extrémité postérieure ; vue latérale.

Deuxième stade larvaire : L'importance de la croissance et les modifications subies par la larve au cours du second stade sont tellement marquées qu'il est nécessaire d'étudier son anatomie à différents moments.

Aux environs du 26e jour, une larve longue de 470 μ, qui porte encore des fragments cuticulaires du premier stade (fig. 25 A), a une largeur maxima de 40 μ ; la région pharyngienne, haute de 15 μ, commence à s'individualiser ; l'œsophage, long de 180 μ, ne montre pas encore de différenciation musculo-glandulaire ; l'appareil excréteur reste à l'état

de simple vésicule située à 110 μ de l'extrémité antérieure ; l'anneau nerveux commence à apparaître 20 μ plus en avant ; l'ampoule rectale est très développée (65 × 30 μ) ; la queue courte (45 μ) et trapue ne porte aucune ornementation cuticulaire.

Les larves extraites le 30e jour de l'insecte (fig. 26 B, C) donnent les chiffres suivants : longueur 800-850 μ ; largeur 45-50 μ ; pharynx 18 μ ;

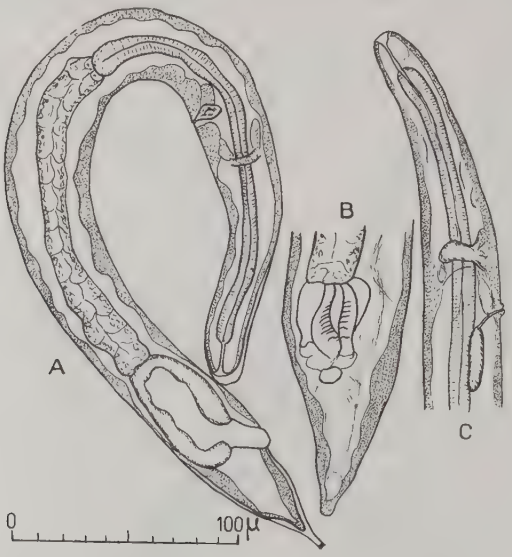


Fig. 26. — *Hadjelia truncata*. Larves du deuxième stade. A, Larve longue de 470 μ, extraite le 26e jour de *Asida sericea*. Vue latérale ; la dépouille larvaire du premier stade reste visible aux extrémités antérieure et postérieure. — B-C, Larve longue de 830 μ, extraite le 30e jour de *Asida sericea*. — B, Extrémité postérieure ; vue ventro-latérale. — C, Extrémité antérieure ; vue latérale.

anneau nerveux, pore excréteur et fin de l'œsophage respectivement à 110-120 μ, 135-150 μ et 310-360 μ de l'apex ; queue 55-65 μ. L'appareil excréteur est formé maintenant d'une glande reliée à la paroi par un canal. Un système ganglionnaire commence à apparaître dans la région de l'anneau nerveux. L'ébauche génitale devient visible à 480 μ de l'extrémité antérieure.

Au 33e jour les larves atteignent une longueur de 1.800 μ et une largeur de 70 μ. L'extrémité céphalique (fig. 27 C, D) porte deux pseudo-lèvres latérales. Les papilles céphaliques sont difficiles à voir mais le parenchyme céphalique forme des lobes qui paraissent être des ébauches de la structure visible au 3e stade. La région pharyngienne reste courte

(23 µ) et peu chitinisée. En opposition avec la région céphalique, tous les autres organes du ver paraissent presque matures et, bien que leurs dimensions doivent se modifier encore de façon importante, leur anatomie se retrouve presque identique chez la larve infestante du troisième stade. L'anneau nerveux, à 140 µ, et le pore excréteur, à 170 µ de l'apex, sont entourés d'un important système de ganglions (fig. 27 A, B) ; cer-

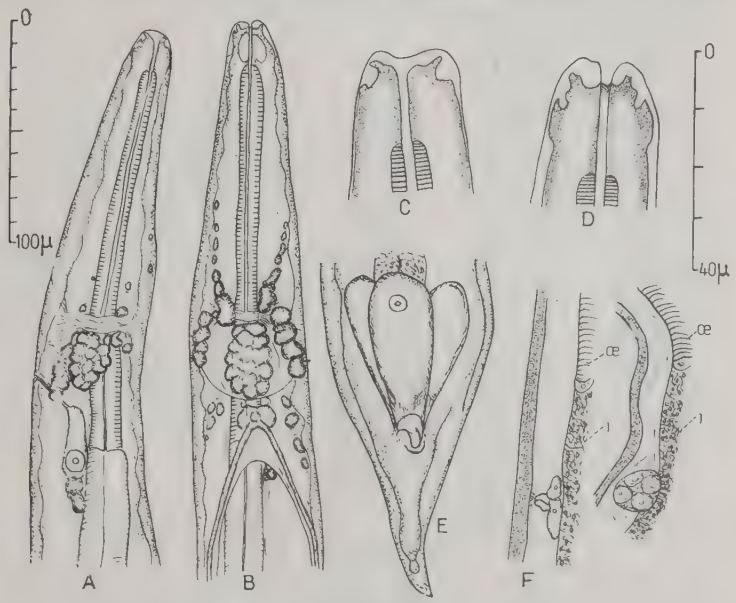


Fig. 27. — *Hadjelia truncata*. Larves du deuxième stade, extraites le 33e jour de *Phytan abbreviatus*. (A, E, G : larve longue de 1.800 µ. B, D, F : larve longue de 1.700 µ. C : larve longue de 1.300 µ). — A, Extrémité antérieure ; vue latérale. — B, Extrémité antérieure ; vue ventrale. — C, Extrémité céphalique ; vue latérale. — D, Extrémité céphalique ; vue ventrale. — E, Extrémité postérieure ; vue dorsale. — F, Ebauche génitale (femelle ?) ; vue latérale. — G, Ebauche génitale (mâle ?) ; vue latérale. A, B, E, F, G, échelle 0-100 µ ; C, D, échelle 0-40 µ.

tains groupes sont particulièrement développés : céphaliques subventraux au-dessus de l'anneau nerveux, latéraux et subventraux (ces derniers fusionnés) au-dessous de l'anneau nerveux. Les diérides apparaissent déjà sous la cuticule, 5 à 10 µ en arrière de l'anneau nerveux. Les champs latéraux sont larges de 28 µ ; il n'y a pas d'ailes latérales. L'œsophage musculaire et l'œsophage glandulaire mesurent respectivement 170 et 320 µ. L'ébauche génitale est située ventralement, généralement à 50 ou 70 µ en arrière de la limite œsophago-intestinale. Elle peut revêtir

une forme globuleuse (fig. 27 G) appliquée contre l'intestin, ou bien être rattachée par un pédoncule à la musculature pariétale (fig. 27 F), ce qui représente probablement l'ébauche génitale femelle, comme cela a déjà été constaté pour d'autres espèces (cf. par exemple *Gongylonema pulchrum* Molin 1857, étudié par Alicata en 1935). La queue (fig. 27 E) est longue de 70 μ. Le bouton caudal, qui apparaîtra au 3e stade larvaire, est déjà en voie de formation sous la cuticule.

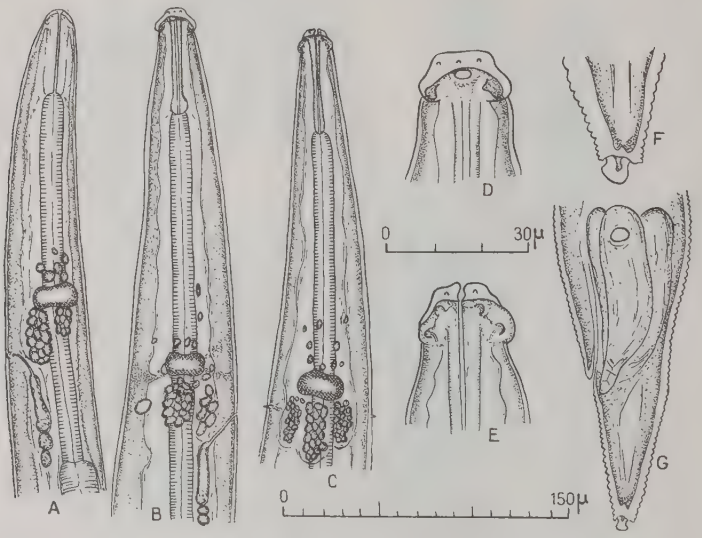


Fig. 28. — *Hadjelia truncata*. A, Larve du deuxième stade, longue de 2.600 μ, extraite le 40e jour de *Phylan abbreviatus*. Extrémité antérieure ; vue latérale. — B à G, Larve du troisième stade longue de 4.100 μ, extraite le 50e jour de *P. abbreviatus*. — B, Extrémité antérieure ; vue latérale. — C, Extrémité antérieure ; vue ventrale. — D, Extrémité céphalique ; vue latérale. — E, Extrémité céphalique ; vue dorsale. — F, Pointe caudale ; vue latérale. — G, Extrémité postérieure ; vue latérale. A, B, C, G, échelle 0-150 μ ; D, E, F, échelle 0-30 μ.

Les larves longues de 2.600 μ, telles qu'elles se présentent aux environs du 40e jour (fig. 28 A), sont très comparables à la larve longue de 1.800 μ décrite plus haut, mais la région céphalique est formée et présente, sous la cuticule, les caractères du 3e stade. Le pharynx, qui atteint une hauteur de 45 μ, est tapissé d'une cuticule épaisse. Largeur du corps 80 μ ; cuticule à interstries espacées de 4,5 μ ; anneau nerveux, diérides et pore excréteur respectivement à 170, 190 et 195 μ de l'apex : œsophage musculaire et œsophage glandulaire longs de 210 et de 600 μ ; position de l'ébauche génitale assez variable (au niveau de la limite

œsophago-intestinale ou 300 μ plus en arrière) ; queue longue de 65 μ, présentant très distinctement sous la cuticule le bouton caudal du stade suivant.

Troisième stade larvaire : La larve, bien mobile, paraît cependant moins rapide dans ses mouvements que celle du troisième stade de *S. dipterum*. Le corps, long de 4.250 μ et large au niveau de la fin de l'œsophage de 110 μ, est recouvert d'une cuticule épaisse à interstries larges de 9 μ. La bouche est limitée par deux grandes pseudo-lèvres (fig. 28 D, E) et les interlabia restent très peu distincts en vue latérale. Il existe un cycle interne de six papilles bien marquées et un cycle externe de huit papilles ; les paires médio-médianes sont nettement séparées en avant des paires latéro-médianes. La paire d'amphides a une situation antérieure, au niveau des papilles médio-médianes. Le protorhabdion, large et bien chitinisé, est long de 50 μ. L'anneau nerveux, les diérides (symétriques) et le pore excréteur sont situés respectivement à 190, 200 et 220 μ de l'apex (fig. 28 B, C). L'appareil ganglionnaire forme des amas comparables à des grappes de raisin et reste aussi visible que sur la larve du second stade. Il n'existe pas d'ailes latérales. L'œsophage musculaire a une longueur de 360 μ et l'œsophage glandulaire de 1.200 μ. L'ébauche génitale n'a pas été étudiée sur l'animal vivant et elle n'est pas visible sur les exemplaires conservés dans l'alcool. Les glandes rectales (fig. 28 G) restent très développées. La queue, longue de 80 μ, porte à la pointe un bouton arrondi, inerme, d'environ 6 μ de diamètre (fig. 28 F).

Conclusion. La structure céphalique des espèces du genre *Hadjelia* présente des affinités remarquables avec certaines espèces d'*Acuariidæ Schistorophinæ :* en particulier la fusion des papilles céphaliques du cycle externe et l'existence de petites ailes membraneuses sur les pseudo-lèvres (Chabaud et Campana, 1950 *a*). C'est ainsi que Gendre (1922) a insisté sur les affinités d'*Hadjelia* avec *Histiocephalus :* les figures données par Li (1934) pour *Ancyracanthopsis fausti*, parasite de *Microsarcops cinereus*, paraissent encore plus frappantes. Cependant, le genre *Hadjelia* a été rangé dans les *Spiruridæ Habronematinæ* depuis Chitwood et Wehr (1934) à cause de l'existence des interlabia.

Les caractères biologiques d'*H. truncata* paraissent confirmer cette façon de voir :

Bien que les conditions expérimentales (température basse et infestation des Coléoptères pendant plusieurs jours successifs) ne permettent pas d'accorder une valeur très précise au chiffre de 50 jours, trouvé pour l'évolution complète chez l'hôte intermédiaire, il n'en reste pas moins évident que l'évolution est très lente. Nous croyons qu'une évolution très longue chez l'hôte intermédiaire est

incompatible avec un Nématode appartenant à une famille aussi élevée dans la classification zoologique que celle des *Acuariidæ* (cf. Chabaud, 1949). Donc, malgré les analogies très apparentes du genre *Hadjelia* avec certains *Schistorophinæ*, la place de ces parasites dans les *Habronematinæ* semble beaucoup plus satisfaisante.

Un fait d'un autre ordre vient appuyer cette conclusion : la larve du troisième stade possède un cycle externe de huit papilles céphaliques largement distinctes, alors que l'adulte a des papilles complètement fusionnées. La réapparition d'éléments ancestraux chez les larves de Nématodes hétéroxènes est un phénomène très exceptionnel, et le nombre total des papilles portées par l'adulte se trouve presque toujours réalisé d'emblée sur la larve du troisième stade. Cette constatation laisse supposer que la fusion des papilles est une acquisition plus récente pour *Hadjelia* que pour les *Acuariidæ*.

X. — *HABRONEMA sp.*

Matériel. — A la dissection d'un spécimen de *Pimelia echidna* Fairm. (*sensu lato*) (dét. Kocher), capturé le 6 avril 1952 à Taroudant (Maroc), par Jean Théodoridès, récolte de dix larves très mobiles, libres dans la cavité générale.

Morphologie. — Larves longues de 1,75 à 1,80 mm., larges de 55 à 60 μ, recouvertes d'une cuticule épaisse, à stries transversales fortes et très largement espacées (5,5 μ). Le bord postérieur de chaque interstrie est légèrement plus saillant que le bord antérieur de l'interstrie suivante, si bien que la cuticule paraît crénelée.

Tête arrondie, avec une bouche hexagonale (fig. 29 D). Les six papilles du cycle interne sont insérées chacune sur un mamelon et ceux-ci sont répartis en deux groupes latéraux, unis trois à trois, par une bande de parenchyme saillante. Cette structure est très intéressante, car elle nous fait assister à la formation des lèvres latérales qui limiteront la bouche de l'adulte. Chez la larve, au contraire, la bouche reste indépendante et n'est même pas comprimée latéralement. Cycle externe formé par huit papilles, les latéro-médianes étant un peu plus grandes que les médio-médianes. Amphides légèrement antérieures au niveau des papilles du cycle externe. Protorhabdion cylindrique, long de 60-65 μ (fig. 29 A, B). Œsophage musculaire long de 125-135 μ ; œsophage glandulaire long de 370-400 μ. Anneau nerveux à la partie moyenne de l'œsophage musculaire, à 130-135 μ de l'apex. Pore excréteur s'ouvrant 15 à 20 μ plus bas, relié par un canal court à une petite cellule excrétrice ; en arrière de celle-ci partent deux canaux latéro-ventraux très apparents. Les formations ganglionnaires sont très largement développées et comblent

toute la région neuro-excrétrice. Les diérides sont très asymétriques, la gauche en avant de l'anneau nerveux, à 85 μ de l'apex, la droite en arrière du pore excréteur, à 155-170 μ de l'apex. Ebauche génitale ovoïde, longue de 15 μ et large de 5 μ, située à 400-450 μ en arrière de la fin de l'œsophage ; elle est formée par cinq à six grandes cellules appliquées contre l'intestin. Queue longue de 55-60 μ, tronquée à son extrémité. La pointe

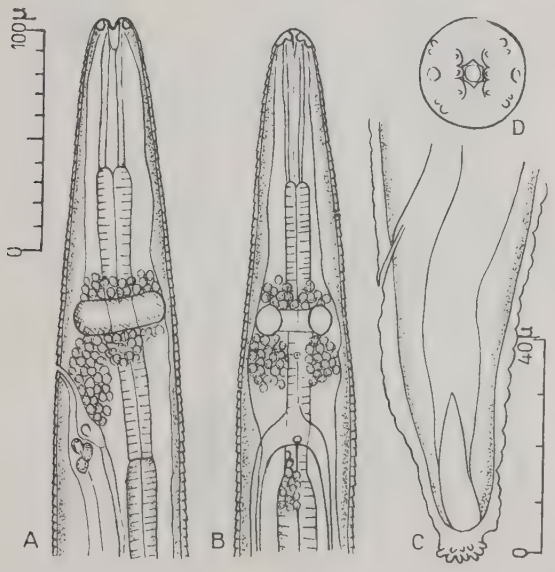


FIG. 29. — *Habronema* sp. Larve parasite de *Pimelia echidna*. A, Extrémité antérieure ; vue latérale ; échelle 0-100 μ. — B, Extrémité antérieure ; vue ventrale ; échelle 0-100 μ. — C, Extrémité postérieure ; vue latérale ; échelle 0-40 μ. — D, Extrémité céphalique ; vue latérale ; échelle 0-40 μ.

caudale (fig. 29 C) est ornée d'un bouton cylindrique, d'environ 10 μ de large et 5 μ de haut, dont la face postérieure est couverte de nombreuses petites proéminences perlées.

Discussion. — Par sa structure céphalique et par son anatomie générale, proche par exemple de celle d'*Hadjelia truncata*, cette larve paraît pouvoir être rattachée aux *Habronematinæ* et très probablement au genre *Habronema*, si riche en espèces. Il est naturellement impossible de lui assigner une place spécifique et nous la désignerons simplement comme larve d'*Habronema* sp.

XI. — *AGAMOSPIRURA sp.* n° 1

Matériel. — Récolte par J. Théodoridès de six larves très mobiles, libres dans la cavité générale d'une *Pimelia tristis* Haag., capturée le 5 avril 1952, au bord de l'Oued Tensift, au Maroc.

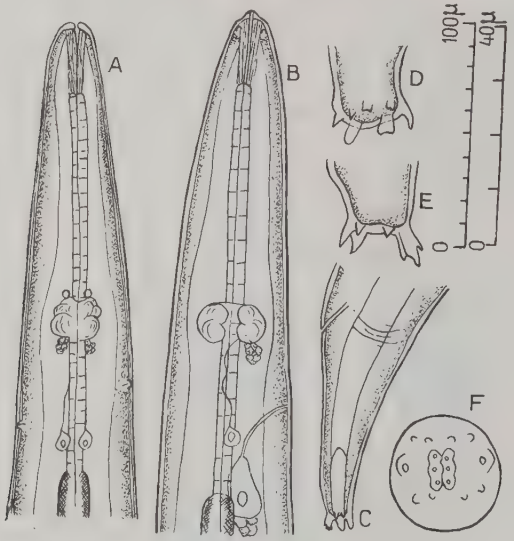


Fig. 30. — *Agamospirura* sp. n° 1. Larve parasite de *Pimelia tristis*. A, Extrémité antérieure ; vue ventrale. — B, Extrémité antérieure ; vue latérale. — C, Extrémité postérieure ; vue latérale. — D, Pointe caudale ; vue ventrale. — E, Pointe caudale ; vue latérale. — F, Extrémité céphalique ; vue latérale. A, B, C, échelle 0-100 µ ; D, E, F, échelle 0-40 µ.

Morphologie. — Larves longues de 2,2 à 2,7 mm., larges de 60 à 70 µ, recouvertes d'une cuticule à stries transversales peu profondes, espacées de 4 µ. Les champs latéraux sont peu marqués et très étroits (8 µ). Les ailes latérales sont étroites mais restent constantes sur la presque totalité du corps ; elles débutent un peu en avant de l'anneau nerveux et ne s'estompent que dans la région rectale.

Bouche limitée par deux petites lèvres latérales, sur lesquelles sont insérées les six papilles du cycle interne (fig. 30 F). Cycle externe de huit papilles subégales, les paires médio-médianes plus antérieures que les paires latéro-médianes ; amphides bien marquées. Protorhabdion cylindrique, long de 30 µ (fig. 30 A, B). Œsophage musculaire étroit, long

de 170-190 μ. Œsophage glandulaire élargi, long de 500 à 580 μ. Anneau nerveux au milieu de l'œsophage musculaire, à 140-145 μ de l'apex. Pore excréteur à 175-180 μ de l'apex ; canal excréteur régulièrement courbé postérieurement, aboutissant à une grande cellule excrétrice appliquée sur la jonction musculo-glandulaire de l'œsophage. Amas ganglionnaires peu développés. Il existe en outre deux grandes cellules situées en avant de la cellule excrétrice, en position latéro-ventrale, qui paraissent envoyer un prolongement vers l'anneau nerveux. Nous n'avons jamais remarqué de cellules de ce type chez d'autres larves de Spirurides et nous n'en connaissons pas la signification. Les diérides sont toutes les deux postérieures à l'anneau nerveux ; parfois presque symétriques, à 175 μ de l'apex, parfois légèrement asymétriques, l'une à 162 μ, l'autre à 180 μ. La queue (fig. 30 C), courte (85-95 μ) et tronquée, se termine par sept à huit grandes pointes irrégulières et quelques dents plus courtes (fig. 30 D, E).

Discussion. Comme la précédente, cette larve se rapproche de celle d'*Hadjelia truncata* et nous croyons qu'elle entre aussi dans le cadre des *Habronematinæ*, mais, comme la structure céphalique est moins caractéristique, nous préférons la désigner simplement comme *Agamospirura* sp. n° 1.

XII. — *AGAMOSPIRURA sp.* n° 2

Matériel. — Une larve, récoltée par Jean Théodoridès, dans la cavité générale d'un *Scaurus stictieus* Germ., de Banyuls (Pyrénées-Orientales), en septembre 1951.

Morphologie. — Corps long de 2,3 mm. et large de 70 μ, remarquable par l'amoindrissement très accusé de l'extrémité antérieure (large de 15 μ) ; cuticule à stries transversales espacées de 4,5 μ, le bord postérieur de chaque interstrie faisant légèrement saillie sur l'interstrie suivante. Ailes latérales absentes. Champs latéraux peu marqués, larges de 10 μ. L'extrémité céphalique n'a pas pu être étudiée avec précision ; elle paraît présenter une lèvre dorsale et une lèvre ventrale entourant l'ébauche de deux lèvres latérales. Protorhabdion long de 28 μ (fig. 31 A) ; œsophage musculaire très fin (large de 10 μ), long de 230 μ ; l'œsophage glandulaire présente, chez notre exemplaire, une dilatation antérieure, longue de 110 μ et large de 50 μ, puis devient brusquement plus étroit et s'élargit progressivement en arrière ; la longueur totale de la portion glandulaire est de 1,10 mm. ; l'œsophage se termine donc à 1,36 mm. de l'extrémité antérieure, et occupe ainsi plus de la moitié de la longueur du corps. Anneau nerveux à 170 μ de l'apex ; pore excréteur s'ouvrant

exactement au même niveau ; canal excréteur rectiligne ; cellule excrétrice longue de 30 μ. Diéride gauche à 95 μ de l'apex ; diéride droite non repérée. Queue conique (fig. 31 B), longue de 80 μ, se terminant par une vingtaine de formations irrégulières en forme d'écailles à pointe arrondies (fig. 31 C).

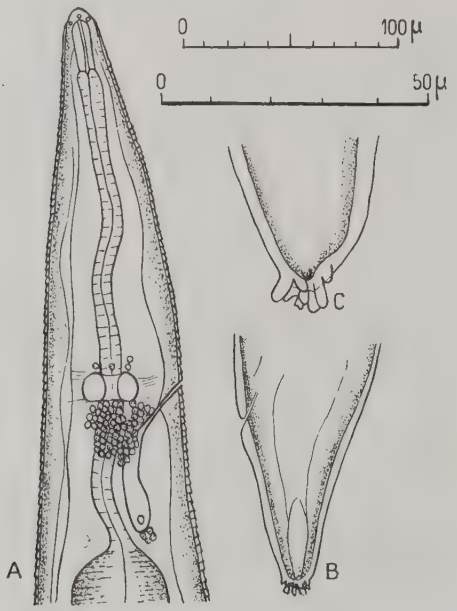


Fig. 31. — *Agamospirura* sp. n° 2. Larve parasite de *Scaurus stictieus*. A, Extrémité antérieure ; vue latérale ; échelle 0-100 μ. — B, Extrémité postérieure ; vue latérale ; échelle 0-50 μ. — C, Pointe caudale ; vue latérale ; échelle 0-50 μ.

Discussion. — Nous avons cru qu'il était utile de décrire cette larve, car la faune de la région de Banyuls fait l'objet d'études très nombreuses, et nous pensons que cette forme (probablement aussi du groupe des *Habronematinæ*) est suffisamment caractéristique pour pouvoir être rattachée à l'adulte, lorsqu'il sera découvert dans la même région. N'ayant pu étudier en détail la structure céphalique, il nous est difficile de la classer avec précision et nous préférons la désigner sous le nom d'*Agamospirura* sp. n° 2.

XIII. — *AGAMOSPIRURA sp.* n° 3

Matériel. — Cette larve a été trouvée à deux reprises (environ 40 spécimens le 9 septembre 1949 et environ 30 spécimens le 29 août 1951) chez deux *Akis elegans* Charp. (détermination L. Kocher), récoltés dans les jardins de l'Institut Pasteur à Casablanca. Environ 40 *Akis* provenant du même endroit étaient négatifs.

La larve est encapsulée dans les cellules de l'épithélium intestinal, comme l'a observé récemment Schell (1952) pour *Physaloptera hispida* Schell 1950 chez la Blatte germanique. La capsule est très mince et l'on trouve à la dissection des larves, libres tantôt dans la lumière intestinale, tantôt dans la cavité générale, appliquées contre la paroi digestive ; mais le fait le plus remarquable est que toutes les larves soient strictement limitées à une zone ne dépassant pas une longueur d'un millimètre, à la limite entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur, dans la zone de raccordement des tubes de Malpighi.

Morphologie. — Larves enroulées dans des capsules d'un diamètre de 120 μ. Corps long de 780 à 970 μ, épais (diamètre 50-60 μ), recouvert d'une cuticule forte à stries rapprochées. La cuticule ne forme pas de bourrelet céphalique. Les aires latérales, larges de 11 μ, sont épaissies depuis la région cervicale jusqu'au niveau de l'anus pour former deux véritables cordons striés transversalement.

La tête (fig. 32 A) porte un cadre buccal quadrangulaire, mesurant 8 μ dans le sens dorso-ventral et 5 μ dans le sens latéral. Six petites saillies (2 latérales et 4 submédianes) sont insérées sur l'épaisseur du cadre et paraissent correspondre aux six papilles du cycle interne plutôt qu'à des ébauches de dents. En arrière de chaque papille latérale du cycle interne, le cadre se soulève pour former deux petites pseudo-lèvres aiguës. Le cycle externe comprend quatre petites papilles submédianes et deux amphides. Cavité buccale réduite, haute de 10 μ (fig. 32 B).

L'anneau nerveux entoure le quart postérieur de l'œsophage musculaire à 90-100 μ de l'extrémité antérieure. La cellule excrétrice, arrondie, est accolée à la face ventrale de l'œsophage glandulaire, dans sa partie la plus antérieure. Le canal excréteur, très fin, s'ouvre par un pore excréteur situé à 115-120 μ de l'apex. Les diérides subsymétriques sont très postérieures, placées à 140-165 μ de l'extrémité antérieure. L'œsophage musculaire mesure 100-140 μ et l'œsophage glandulaire 270-360 μ. Une ébauche génitale est différenciée à environ 60 μ en arrière de la fin de l'œsophage. La queue (fig. 32 C), longue de 68-71 μ, est arrondie ; elle porte des phasmides symétriques subventrales, à 20 μ de l'extrémité postérieure. La pointe caudale est ornée de minuscules épines rangées

en séries linéaires et couvrant la face ventrale seulement sur une hauteur de 15 μ (fig. 32 D).

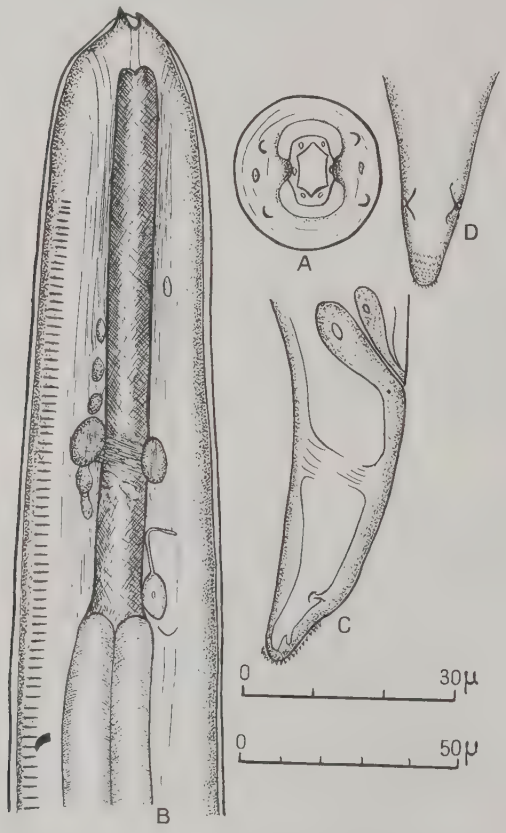


Fig. 32. — *Agamospirura* sp. n° 3. Larve parasite de *Akis elegans*. A, Extrémité céphalique ; vue apicale. — B, Extrémité antérieure ; vue subventrale. — C, Extrémité postérieure ; vue latérale. — D, Pointe caudale ; vue ventrale. A, C, D, échelle 0-30 μ ; B, échelle 0-50 μ.

Discussion. — Les cordons latéraux et l'existence de petites pseudo-lèvres aiguës semblent permettre le rattachement de cette larve à la famille des *Acuariidæ*, sans que nous en puissions préciser le genre. Il est donc très intéressant d'y trouver un cycle interne de papilles céphaliques complet, car ce cycle interne disparaît de façon absolument constante chez tous les *Acuariidæ* adultes.

XIV. — *SYNHIMANTUS (DESPORTESIUS) SPINULATUS* Chabaud et Campana 1949

L'étude de ce cycle évolutif ayant été faite en détail dans une publication antérieure (Chabaud, 1950 *a*), nous rappellerons simplement ici les faits les plus saillants.

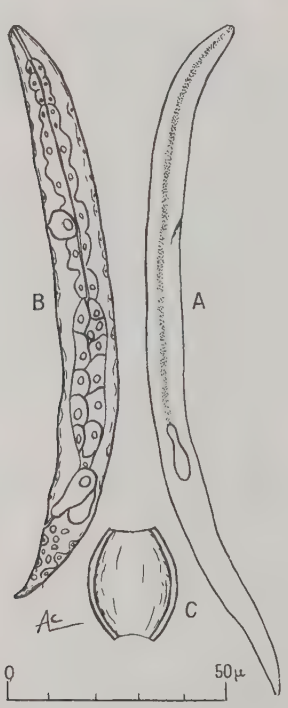
1. — Evolution chez l'Arthropode

Sept *Synhimantus spinulatus* femelles, récoltés sous la membrane du gésier d'un *Bubulcus ibis* (L. 1758) (tué à Had Kourt, dans le Rharb, Maroc), ont été mis en contact, dans l'eau, avec différentes espèces d'Arthropodes. Des Copépodes non déterminés, des larves de *Theobaldia longeareolata* (Macquart), des larves d'Ephémères et des larves de Chironomes sont restés négatifs, mais le Nématode peut atteindre le stade infestant chez deux espèces d'Ostracodes, *Cyprinotus salinus* (Brady 1868) et *Pionocypris vidua vidua* (O. F. Müller 1776).

Le tableau ci-joint indique les dimensions les plus caractéristiques de chaque stade larvaire. Les œufs du Nématode conservent

	1er STADE		2e STADE		3e STADE		4e STADE	
Jour - Sexe.....	1	4	5	9	12	12	12 + 6 — ♂	12 + 6 — ♀
Longueur.....	155	130	300	620	1.380	1.750	2.620	4.000
Largeur.....	8	12	30	33	45	45	60	65
Protorhabdion....				18	80	85	125	130
Œsop. musc.....				50	140	160	315	350
Œsop. total.....		60	100	170	600	610	1.300	1.650
Ann. nerveux			50	68	95	100	150	160
Pore excrét.....	45	45	60	95	110	120	180	180
Diérides.....					135	135	200	200
Queue.....			45	52	50	50	65	50

leur pouvoir infestant même après un séjour d'une semaine dans l'eau. Lorsque l'œuf est ingéré par un Ostracode (1), la larve éclôt dans le tube digestif et passe aussitôt dans la cavité générale (fig. 33).



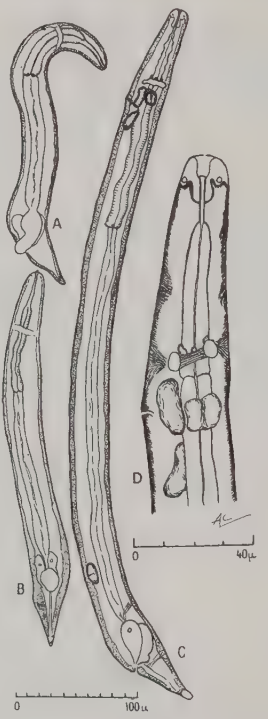


Fig. 33. — *Synhimantus spinulatus*. Premier stade larvaire. A, Larve très jeune ; vue latérale. — B, Larve au 4e jour ; vue latérale. — C, Œuf ouvert aux deux pôles dans l'intestin de l'Arthropode. (D'après A.-G. Chabaud, 1950).

Fig. 34. — *Synhimantus spinulatus*. Deuxième stade larvaire. A, Larve au 6e jour ; vue latérale. — B, Larve au 6e jour ; vue ventrale. — C, Larve au 9e jour ; vue latérale. — D, Larve au 9e jour ; extrémité antérieure ; vue latérale. (D'après A.-G. Chabaud, 1950).

Elle s'immobilise rapidement, prend un aspect un peu plus trapu, et le tube digestif commence à s'organiser. La longueur totale n'augmente pas jusqu'au 5e jour, moment où se produit la première mue.

(1) Les Ostracodes en expérience ont été conservés à une température voisine de 25°.

Le 6e jour, les larves ont subi une transformation considérable (fig. 34) ; elles ont plus que doublé tant en longueur qu'en largeur, et leur forme trapue, ainsi que la dilatation de la région postérieure du corps rappellent les stades larvaires « en saucisse » connus chez les Filaires. Le développement, à cette période, est extrêmement rapide, les larves doublent leur taille en 48 heures et la structure interne paraît maintenant complètement organisée. Les 8e et 9e jours

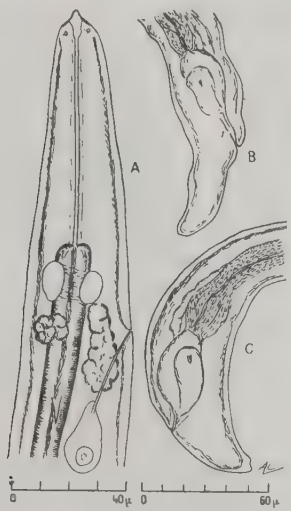


Fig. 35. — *Synhimantus spinulatus*. Troisième stade larvaire. A, Larve au 11e jour. Extrémité antérieure ; vue latérale. — B, Larve au 20e jour (mâle ?). Extrémité postérieure ; vue latérale. — C, Larve au 20e jour (femelle ?). Extrémité postérieure ; vue latérale. (D'après A.-G. Chabaud, 1950).

(fig. 35), la croissance est très ralentie, les larves préparant la deuxième mue, qui a lieu le 9e ou le 10e jour. La larve du troisième stade, qui reste en diapause chez le *Cypris*, possède une ébauche de cordons céphaliques, représentée par un simple épaississement cuticulaire en avant des papilles céphaliques. Les diérides ont la forme d'un aiguillon simple ; l'anatomie digestive rappelle déjà celle de l'adulte ; les sexes se distinguent par la forme de la pointe caudale, plus fine chez le mâle.

Cette larve infestante est capable de se réencapsuler chez différents Vertébrés (Têtards de *Discoglossus pictus* Ott., Cyprinidé pro-

che de *Barbus*). Les résultats négatifs des expériences de réencapsulement faites avec des *Gambusia* tiennent probablement à la rapidité du transit intestinal de ces poissons.

2. — Evolution chez l'hôte définitif

Quelques précautions ayant été prises pour chercher à éliminer la possibilité d'une infestation spontanée, un *Bubulcus* a été infesté

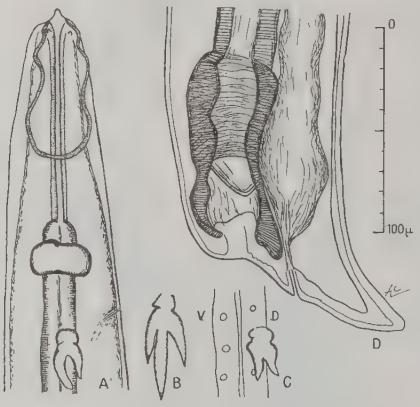


Fig. 36. — *Synhimantus spinulatus*. Quatrième stade larvaire. A, Larve mâle ingérée depuis 6 jours par *Bubulcus*. Extrémité antérieure ; vue latérale droite avec diéride atrophique. — B, Diéride gauche normale du même spécimen. — C, Postdiéride du même spécimen. — D, Larve femelle ingérée depuis 6 jours par *Bubulcus*. Extrémité postérieure ; vue latérale. (D'après A.-G. Chabaud, 1950).

expérimentalement par l'ingestion de 10 Ostracodes une première fois, et par l'ingestion de 30 Ostracodes neuf jours plus tard. On retrouve à l'autopsie de l'Oiseau, sous la couche cornée et dans la muqueuse du gésier, d'une part, des adultes jeunes, mais déjà matures, qui correspondent à une infestation datant de 15 jours, et, d'autre part, des larves du quatrième stade qui correspondent à l'infestation faite six jours avant (fig. 36). Il est donc certain que la troisième mue s'effectue avant le 6e jour, et la quatrième mue nettement avant le 15e jour, puisque à cette date les femelles sont déjà matures.

Les larves du quatrième stade sont remarquables par l'existence de quatre cordons céphaliques grêles et non spinulés, qui sont anastomosés deux par deux sur les faces latérales, mais ne sont pas

récurrents (fig. 36 A). Il existe de très grosses diérides tricuspides et des postdiérides bicuspides, qui sont également très développées. (Une anomalie curieuse est présentée par une larve qui possède une diéride atrophiée ayant la taille et la forme d'une postdiéride normale). L'appareil génital femelle, monodelphe, et à vulve en situation préanale, a donc déjà les éléments caractéristiques de la femelle adulte.

Discussion. — En dehors des particularités morphologiques signalées précédemment, le cycle est remarquable par son extrême rapidité ; la larve devient infestante après un passage chez l'hôte intermédiaire qui n'excède pas 13 jours, et le cycle complet peut être bouclé en 28 jours.

Parmi les *Acuariidæ*, dont le cycle évolutif est élucidé, nous ne connaissons qu'une autre espèce : *Echinuria uncinata* (Rud. 1819), ayant également un Arthropode aquatique pour hôte intermédiaire. *E. uncinata*, dont le cycle avait été découvert, chez des Daphnies, par Hamann en 1893, a été plus récemment étudié expérimentalement par Romanova (1947). Ici encore, le cycle est très rapide, puisque les larves deviennent infestantes en 13 jours, mais, chez l'hôte définitif, les femelles ne commencent à pondre que le 51e jour.

En 1949 *b*, ignorant encore les caractères biologiques de notre Nématode, nous avions, en collaboration avec Y. Campana, cherché à établir que le genre *Synhimantus* comprend des formes plus primitives, parasites de Rapaces (sous-genre *Synhimantus*), et des formes plus spécialisées, parasites d'Ardéiformes (sous-genre *Desportesius*). En nous basant uniquement sur la morphologie de l'adulte, nous avions été conduits à considérer l'espèce *S. spinulatus* comme l'une des formes les plus spécialisées du sous-genre *Desportesius*, ce sous-genre ne comprenant déjà lui-même que des formes très évoluées. Nous verrons dans la deuxième partie de ce travail que les caractères biologiques et morphologiques de ce cycle s'accordent parfaitement bien avec les conclusions tirées de l'étude morphologique de l'adulte.

XV. — *ABBREVIATA* (?) *CAUCASICA* (Linstow 1902)

Matériel. — Un exemplaire de *Morica planata* F., récolté sur la route d'Ifrane à Azrou (Maroc), par Jean Théodoridès, le 12 avril 1952, et disséqué le 24 mai, contient plus de cent capsules dans la cavité générale. Un petit nombre, à parois épaisses, contient des larves âgées de *Spirura rytipleurites seurati*, et le plus grand nombre,

à parois minces, des larves de Physaloptères. Ces dernières, placées dans l'eau ordinaire, se libèrent très rapidement de leur capsule et restent vivantes pendant cinq jours.

Morphologie. — Corps trapu, long de 10 à 12 mm., large de 280 à 320 μ, recouvert d'une cuticule très fine, à stries transversales peu marquées et très rapprochées. Tête (fig. 37) limitée par une petite invagination cuticulaire formant un collier à 30 μ de l'apex. Bouche allongée

Fig. 37. — *Abbreviata caucasica*. Larve du troisième stade. Extrémité céphalique ; vue apicale.

dorso-ventralement, limitée par deux pseudo-lèvres massives, portant sur leur marge interne cinq paires de dents. La paire axiale, beaucoup plus forte, a une large base et une pointe aiguë ; son versant interne présente une très légère bosse, probablement ébauche d'une petite dent chez l'adulte. Les quatre autres paires sont réparties par groupe de deux, à chacun des angles submédians du cadre buccal ; l'une a la forme d'une épine perpendiculaire à l'axe de la bouche, l'autre est allongée suivant l'axe buccal, et se trouve presque appliquée contre le bord interne de la bouche. Deux grosses paires de papilles submédianes et une paire d'amphides s'insèrent sur la partie moyenne des pseudo-lèvres.

Entre l'ouverture buccale et le début de l'œsophage existe une zone occupée par l'extrémité antérieure de 6 énormes cellules d'aspect glandulaire, longues de 90 μ, appliquées en avant sur l'arrière-bouche et en arrière sur l'œsophage (fig. 38). Œsophage musculaire long de 210 à 300 μ et œsophage glandulaire long de 1,4 à 1,9 mm. Anneau nerveux à

la fin de l'œsophage musculaire, à 200-230 μ de l'apex. Le pore excréteur est à 400 μ de l'apex ; il est relié par un canal, qui décrit une anse convexe en avant, à une petite cellule excrétrice largement distante de l'œsophage. Amas ganglionnaires assez petits, situés essentiellement en

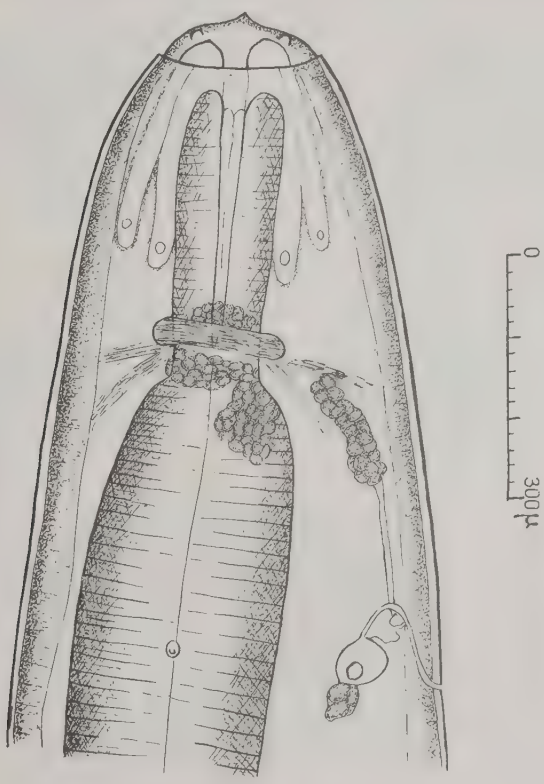


Fig. 38. — *Abbreviata caucasica*. Larve du troisième stade. Extrémité antérieure ; vue latérale.

position latérale et ventrale, postérieurement à l'anneau nerveux, avec un petit groupe appendu à la cellule excrétrice. Diérides à pointe mousse, presque symétriques, au même niveau que le pore excréteur. Lignes latérales larges de 65 μ. Queue courte (240 μ chez la femelle, 270 μ chez le mâle), pointue, conique, sans aucune épine à la pointe.

Les ébauches génitales sont largement développées. Chez la femelle,

on peut percevoir l'ébauche vulvaire à 1,1 mm. en arrière de la fin de l'œsophage ; il en part, en direction postérieure, une formation cylindrique longue de 400 μ, qui comprend une portion antérieure paraissant être l'ébauche du vagin, et une portion postérieure plus large, avec, à l'extrémité, quatre courtes digitations terminées chacune par une grande cellule claire. L'existence de quatre utérus est donc déjà marquée à ce stade. Sur une autre larve, la vulve est située à 300 μ en arrière de l'œsophage, l'ébauche longue de 250 μ présente également quatre cellules terminales mais cette fois leur répartition est nettement dichotomique. Chez le mâle, le testicule naît à 2 mm. en arrière de l'œsophage. Il se replie 110 μ plus loin et se dirige postérieurement, sur une longueur d'environ 800 μ. Le canal déférent paraît déjà indiqué mais est difficile à suivre même sur les spécimens vivants.

Discussion. — Les espèces d'*Abbreviata* à quatre utérus connues en Afrique du Nord sont : *A. abbreviata* (Rud. 1819), *A. pallaryi* (Seurat 1917), *A. paradoxa* (Linst. 1908) et *A. caucasica* (Linst. 1902). Les larves (du 3e ou du 4e stade) des trois premières ont été décrites par Seurat (1916 *a* et 1917 *a*) et ne correspondent pas à notre matériel. La larve d'*A. caucasica* n'a pas encore été décrite, mais la structure céphalique de l'adulte (voir Dollfus et Chabaud, 1954) correspond parfaitement bien à celle de la larve parasite du *Morica*.

Du point de vue morphologique, il est donc très probable que notre larve soit celle d'*A. caucasica*, et cette hypothèse est devenue une quasi-certitude lorsque M. G. Blanc nous a appris que la région où avait été récoltée la *Morica* était, précisément, l'un des rares endroits du Maroc où le Singe *Macacus sylvanus* reste abondant.

On conçoit donc que l'infestation de l'homme par ce Nématode ne soit pas fréquemment signalée, puisque l'ingestion de Coléoptères Ténébrionides ne peut être qu'exceptionnelle. Il serait intéressant de préciser expérimentalement l'éventualité d'une transmission par des espèces plus domestiques telles que le *Tenebrio molitor*.

XVI. — *ABBREVIATA sp.* n° 1

Matériel. — Environ 10 larves libres dans l'estomac d'un *Bufo mauritanicus*, récolté dans les jardins de l'Institut Pasteur à Casablanca, le 24 août 1949 ; l'estomac du Crapaud contenait également des débris abondants de *Periplaneta americana*, qui est peut-être ainsi l'hôte normal de cette larve.

Morphologie. — Corps robuste, très atténué aux deux extrémités, long de 3,0 mm. et large de 210 µ. Cuticule présentant des stries transversales fines et des stries longitudinales. Lignes latérales larges de 23 µ. Chaque pseudo-lèvre porte deux grosses papilles submédianes et une

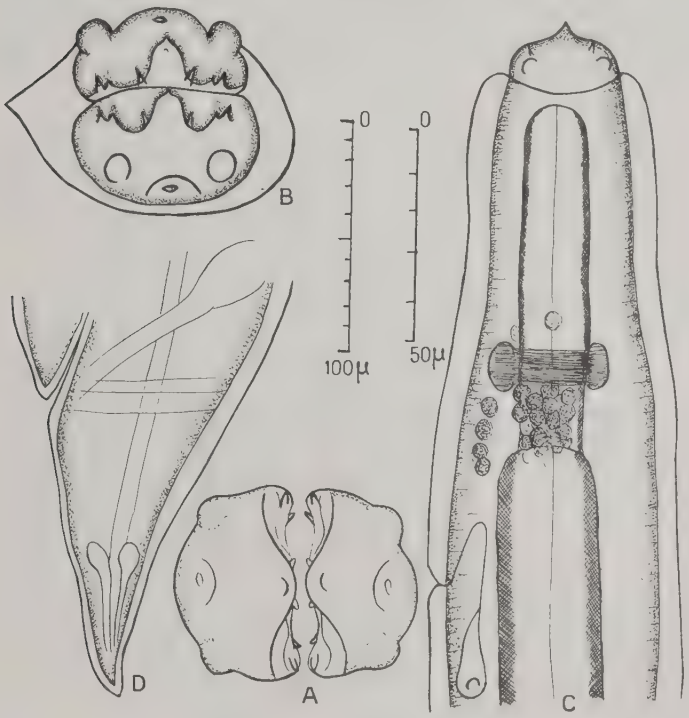


FIG. 39. — *Abbreviata* sp. n° 1 de l'estomac de *Bufo mauritanicus*. A, Extrémité céphalique ; vue apicale. — B, Extrémité céphalique ; vue antéro-latérale. — C, Extrémité antérieure ; vue latérale. — D, Extrémité postérieure ; vue latérale. A, B, D, échelle 0-50 µ ; C, échelle 0-100 µ.

amphide large et bien visible un peu en arrière du niveau des papilles. Le bord libre de chaque pseudo-lèvre est orné (fig. 39 A, B) :

1° d'une forte dent latérale externe très aiguë, légèrement déjetée à l'extérieur. Sur son versant interne est située une minuscule éminence, ébauche d'une dent latérale interne ;

2° de deux dents internes sublatérales qui s'insèrent au niveau de la base de la dent latérale externe. Elles sont aiguës et ont une longueur égale à peu près au tiers de la dent externe ;

3° de deux paires de dents submédianes, nettement espacées des précédentes, l'une du côté ventral, l'autre du côté dorsal. Dans chaque paire la pointe la plus médiane est un peu plus courte et peut même manquer ; la plus longue a une longueur comparable aux dents internes sublatérales.

La cavité buccale est profonde de 30 μ (fig. 39 C). L'œsophage musculaire, long de 150 μ, est entouré à sa partie terminale par l'anneau nerveux dont le milieu est à 195 μ de l'apex. L'œsophage entier mesure 950 μ. Les diérides et le pore excréteur sont très postérieurs, situés respectivement à 245 et 250 μ de l'extrémité antérieure.

Ebauches génitales bien développées, comprenant chez la femelle une ébauche vulvaire située juste en arrière de la fin de l'œsophage, suivie postérieurement d'un cordon cellulaire long de 95 μ ; l'apex du cordon est formé par une grande cellule claire comprenant quatre grands noyaux qui laissent présumer l'existence de quatre utérus chez l'adulte. Ebauche génitale mâle représentée par un cordon formé d'une courte branche ascendante de 40 μ, qui se replie à 600 μ en arrière de la fin de l'œsophage et s'étend en arrière sur une longueur de 200 μ.

La queue (fig. 39 D), longue de 130 μ, est brusquement et régulièrement atténuée et se termine par une extrémité arrondie dépourvue d'ornements.

Discussion. — Seurat, dans différentes publications (1916 *a*, 1917 *a*, 1919), a décrit plusieurs larves d'*Abbreviata* nord-africains, parasites de Reptiles, qui sont morphologiquement proches de notre matériel ; mais, en plus de divergences dans la situation et la taille de différents organes, notre espèce est caractérisée par l'existence des deux dents sublatérales internes dont la grande taille contraste avec l'atrophie de la dent latérale interne. Ce caractère est constant sur tous nos exemplaires, et, chez les autres espèces connues, la structure buccale ne paraît subir aucune modification importante entre le troisième stade larvaire et l'adulte. Nous croyons donc avoir affaire à une espèce dont l'adulte n'est pas encore décrit. Nous préférons cependant ne pas donner de désignation spécifique, car la structure buccale de certaines espèces d'*Abbreviata* est trop imparfaitement connue pour qu'il soit possible de faire une diagnose certaine.

XVII. — *ABBREVIATA sp.* n° 2

Matériel. — Deux larves dans la cavité générale de *Tentyria mucronata*, récoltées par J. Théodoridès, Le Barcarès (Pyrénées-Orientales), 12 octobre 1949 (forme rare n'ayant encore été jamais retrouvée au cours de nombreuses dissections d'autres *Tentyria*).

Morphologie. — Corps trapu, long de 6,1 mm. et large de 300 μ, recouvert d'une cuticule épaisse formant un bourrelet au niveau de la naissance des lèvres. Présence de stries transversales et de stries longitudinales. Lignes latérales larges de 40 μ.

Bouche allongée dans le sens dorso-ventral (fig. 40 A), limitée par deux pseudo-lèvres à bords trilobés, chaque lobe correspondant à l'insertion d'une dent : une dent latérale grande, cunéiforme, à pointe aiguë, et deux submédianes, fines et longues, qui, contrairement à la plupart des

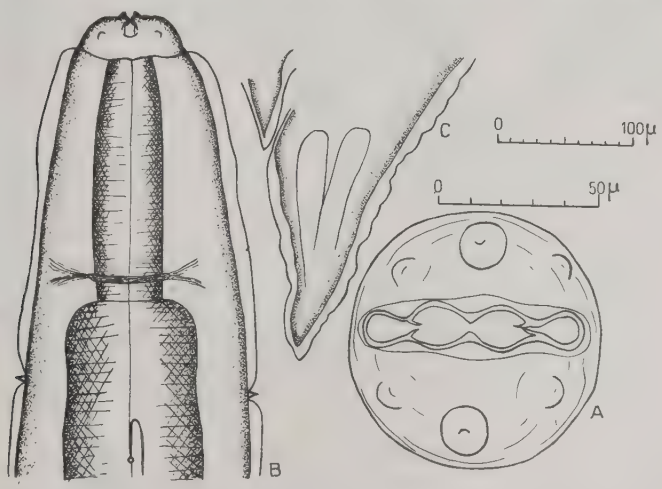


Fig. 40. — *Abbreviata* sp. n° 2. Larve parasite de *Tentyria mucronata*. A, Extrémité céphalique ; vue apicale. — B, Extrémité antérieure ; vue ventrale. — C, Extrémité postérieure ; vue latérale. A, C, échelle 0-50 μ ; B, échelle 0-100 μ.

espèces, ne sont pas dédoublées. Chaque pseudo-lèvre porte deux papilles submédianes bien visibles mais relativement petites et une amphide.

Cavité buccale peu profonde (fig. 40 B) ; œsophage musculaire court (190 μ) portant en arrière l'anneau nerveux qui est à 200 μ de l'apex. Œsophage entier long de 1,35 mm. Les diérides, petites, à pointe arrondie, sont situées symétriquement à 280 μ de l'apex, légèrement postérieures au début de l'œsophage glandulaire. La cellule excrétrice, accolée à l'œsophage, est en rapport avec un canal qui décrit une courbe à concavité postérieure et s'ouvre ventralement à 330 μ de l'extrémité antérieure.

Queue très courte (160 μ), rapidement atténuée, à pointe arrondie (fig. 40 C).

Discussion. — Nous croyons utile de décrire cette larve, car elle paraît appartenir aux *Abbreviata*, parasites de Reptiles, et la découverte d'une espèce adulte dans la même région permettrait probablement d'établir le cycle par analogie morphologique. Notre matériel ne peut en effet être assimilé aux espèces dont la larve est connue (la larve d'*A. abbreviata* (Rudolphi 1819) est plus petite avec des diérides plus postérieures ; celle d'*A. leptosoma* (Gervais 1848) est plus gracile), mais nous préférons ne pas indiquer de désignation spécifique, car notre larve pourrait se rapporter à l'une des espèces dont les larves du 3e stade restent inconnues, telles que *pallaryi* (Seurat 1917), *paradoxa* (Linstow 1908), ou *numidica* (Seurat 1917).

XVIII. – *DIPETALONEMA BLANCI*, Chabaud 1952

Cette Filaire, dont nous avons élucidé le cycle en collaboration avec Baltazard et Minou (1952), fait l'objet de recherches biologiques détaillées, que nous poursuivons actuellement en collaboration avec les chercheurs de l'Institut Pasteur de l'Iran. Nous nous bornerons donc ici à l'étude du cycle proprement dit, sans insister sur les problèmes posés par exemple par la spécificité parasitaire ou par les variations des taux de microfilaires dans le sang.

1. — Description de la microfilaire

Sur frottis de sang colorés au Giemsa, les microfilaires sont longues de 170 à 205 μ et larges de 4,5 μ (fig. 41). Elles sont dépourvues de gaine. Cellules somatiques petites et nombreuses. Espace céphalique long de 5-11 μ, avec souvent un noyau somatique isolé à 3 ou 4 μ. Anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 37-40 μ et 56-65 μ de l'apex. Cellule excrétrice à 10 μ environ en arrière du pore excréteur. Le corps interne est généralement invisible, ce n'est que sur un petit nombre d'exemplaires que l'on peut voir à 110-140 μ de l'extrémité antérieure une zone claire, piquetée de petits points rouges, longue d'environ 8 μ. En arrière de cette zone existent de 3 à 6 cellules rectales, plus ou moins régulièrement espacées, la dernière, qui est souvent la mieux définie, étant à 10 μ en avant de la cellule anale. Cellule anale à 20-25 μ de la pointe caudale, suivie de noyaux somatiques peu nombreux et relativement grands. Le dernier noyau laisse en arrière un espace clair long de 5-8 μ qui forme une pointe caudale fine mais pas très aiguë.

Cette microfilaire est donc nettement plus petite que celle des espèces proches (celle de *D. sprenti* Anderson 1953 mesure 387 μ,

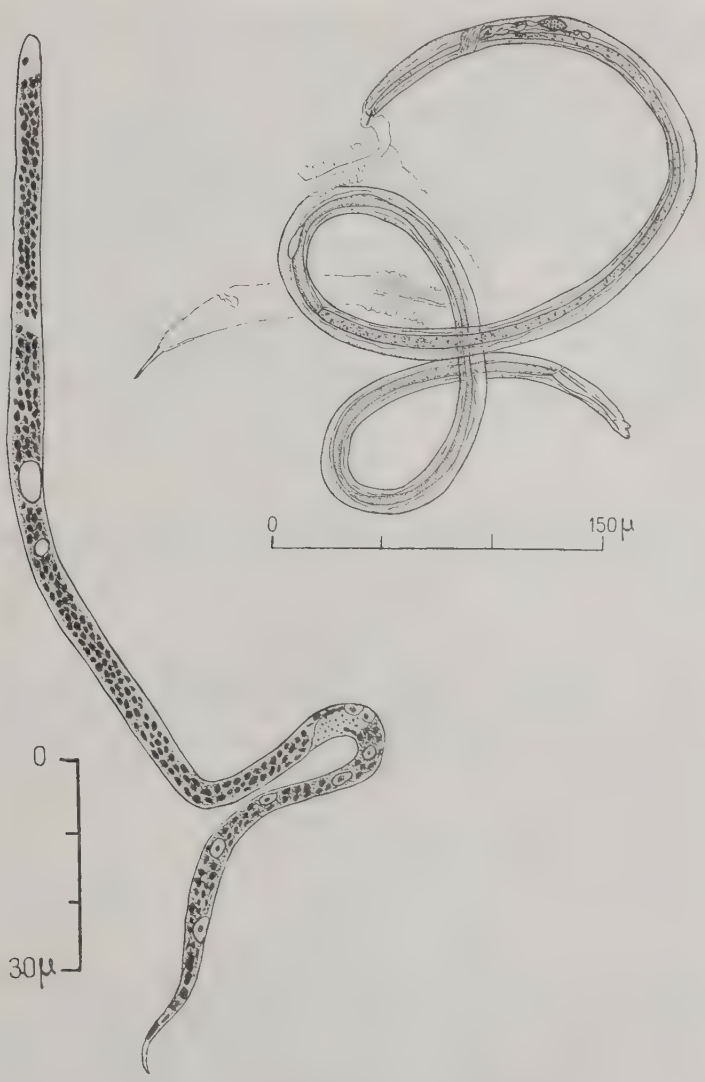


Fig. 41. — *Dipetalonema blanci.* Microfilaire.

Fig. 42. — *Dipetalonema blanci.* Larve au 20e jour.
Le troisième stade larvaire se dégage de la cuticule du deuxième stade.

celle de *D. arbuta* Highby 1943 : 288 μ), et s'en distingue aussi facilement par la réduction du corps interne.

2. — Développement chez l'hôte intermédiaire

A 28°, l'évolution jusqu'au stade infestant s'effectue en une vingtaine de jours chez les deux espèces de Tiques qui ont été trouvées dans les terriers de l'hôte définitif, le *Meriones libycus* Licht. Ce sont deux espèces très éloignées zoologiquement : un *Rhipicephalus* sp. et l'*Ornithodorus tartakovskyi* Olenev. En dehors de ces deux espèces, l'évolution ne paraît pouvoir s'effectuer que chez un très petit nombre d'espèces d'Ornithodores, et presque toujours, même chez des espèces très proches de l'*O. tartakovskyi* telles que l'*O. erraticus*, l'évolution est bloquée dès le début du 2e stade larvaire. Nous avons pris pour type l'évolution chez l'*O. tartakovskyi*.

Premier stade larvaire

Durant les premiers jours, le développement est très lent, les microfilaires quittent les cæca digestifs et pénètrent dans la cavité générale. Au 10e jour, elles ont grandi, mais conservent encore un aspect de microfilaire, car l'organisation interne reste très peu différenciée.

Elles atteignent une longueur de 315 μ et une largeur maxima de 12 μ (fig. 43 A). La région excrétrice est marquée par une très grande cellule claire et la région rectale par une petite cavité, mais la lumière du tube digestif n'est pas encore perceptible. L'extrémité céphalique porte une épine en forme de crochet rabattu en arrière, qui est très bien visible sur le vivant.

Deuxième stade larvaire

Les larves, qui jusqu'à maintenant paraissaient libres dans la cavité générale, se trouvent fréquemment plus ou moins incluses dans une légère capsule. La localisation exacte des larves dans l'organisme de l'Ornithodore est parfois difficile à préciser, car elles se dégagent très rapidement au cours de la dissection et paraissent parfaitement libres. Il est cependant possible d'affirmer que du 14e au 18e jour environ, un grand nombre, et peut-être la totalité des larves, creusent de véritables galeries dans les tissus musculaires de l'Ornithodore et se développent donc en plein tissu musculaire. (L'Ornithodore très parasité est d'ailleurs souvent remarquable par sa faible mobilité).

La première mue, ou tout au moins l'équivalent physiologique de la première mue, s'effectue aux environs du 12e jour. A partir de cette date, on voit en effet la cuticule se soulever en avant et en arrière du corps, sans cependant être rejetée. Le deuxième stade larvaire est donc caractérisé par une extrémité céphalique arrondie, surmontée d'un capuchon transparent, haut d'environ 6 μ, sur lequel se voit la fine lumière de la capsule buccale, et, en arrière, par une queue obtuse, suivie d'un étui cuticulaire fin et transparent, en forme de cône aigu, long d'environ 25 μ.

Une larve du 14e jour est longue (en tenant compte de la mue débordante) de 380 μ et large de 18 μ. La lumière de l'œsophage et de l'intestin devient perceptible et les cellules somatiques commencent à prendre une orientation en files longitudinales, mais l'anatomie reste très peu organisée. On distingue, à 85 μ de l'extrémité antérieure, une énorme cellule excrétrice, haute de 35 μ, et, à 40 μ de la pointe caudale, une ampoule rectale plus petite (fig. 43 B).

Au contact des tissus musculaires de l'Ornithodore, la croissance devient très rapide et l'organisation interne s'effectue très rapidement.

Au 18e jour, une larve longue de 590 μ (fig. 43 C) a une largeur de 22 μ en moyenne et de 25 μ dans la région rectale. La cuticule du premier stade larvaire déborde comme précédemment en avant et en arrière. La capsule buccale, en forme de cylindre étroit, est haute de 5 μ. L'œsophage, long de 220 μ, est divisé en deux parties d'égale longueur, la portion musculaire très étroite, la portion glandulaire beaucoup plus large. L'anneau nerveux (fig. 43 D) est à 60 μ de l'extrémité antérieure. La cellule excrétrice reste très grande (30 μ) et se trouve reliée à la paroi à 95 μ de l'apex par un pédoncule court et arrondi, sans qu'on puisse parler de canal excréteur. La queue, sans tenir compte de la mue débordante, est courte (42 μ) et arrondie avec seulement un très petit mucron à l'apex (fig. 43 E).

Troisième stade larvaire

La deuxième mue, qui cette fois est effective puisqu'elle s'accompagne du rejet de la cuticule du stade précédent, a lieu aux environs du 20e jour. Nous avons eu l'occasion d'assister à cette mue chez une larve longue de 890 μ, libérée dans l'eau physiologique. La larve se tord sur elle-même avec violence, et la cuticule éclate dans la partie moyenne du corps, puis la queue se dégage en quelques secondes et la tête un peu plus lentement (fig. 42). L'ensemble du phéno-

Fig. 43. — *Dipetalonema blanci*. A, Premier stade. Larve au 10e jour ; vue latérale. — B, Deuxième stade. Larve au 14e jour ; vue latérale. — C, Deuxième stade. Larve au 18e jour ; vue latérale. — D, Larve au 18e jour ; extrémité antérieure ; vue latérale. — E, Larve au 18e jour ; extrémité postérieure ; vue latérale. A, B, échelle 0-150 µ ; C, échelle 0-500 µ ; D, E, échelle 0-80 µ.

mène s'est effectué en une à deux minutes, ce qui paraît beaucoup plus rapide que chez les Spirurides.

La larve qui vient de se libérer a pour caractéristiques : longueur 890 μ, largeur 17 μ, anneau nerveux à 65 μ et cellule excrétrice à 100 μ de l'apex. Fin de l'œsophage à 420 μ et ébauche génitale mâle à 450 μ de la tête. Queue ornée de trois appendices, longue de 45 μ.

La maturation s'effectue très rapidement et les larves sont infestantes dès le 22e jour (ce qui a été vérifié en faisant piquer un Mérion neuf par des Ornithodores infestés depuis 22 jours). Les larves deviennent très mobiles, quittent les muscles et se répandent dans la cavité générale de l'Ornithodore.

Elles sont longues de 1.300 à 1.600 μ. La tête est arrondie et présente quatre papilles submédianes très saillantes (et très probablement d'autres papilles difficiles à voir). A 5 μ en arrière de la bouche existe une petite capsule buccale, formée d'un cylindre haut de 3 à 4 μ, dont le bord antérieur est renforcé pour former un petit anneau réfringent. La pointe caudale est ornée d'une saillie arrondie à l'apex et d'une paire de grosses languettes latéro-ventrales (fig. 44 C). Le sexe des larves est facile à déterminer car, si l'ébauche génitale a un aspect comparable dans les deux sexes (cordon long de 20 μ et large de 5 μ, formé par environ quatre très grosses cellules), sa situation est très différente. Chez la femelle, l'ébauche génitale se place au niveau du début de l'œsophage glandulaire, à 190 μ de l'apex (fig. 44 A), alors que chez le mâle elle est en arrière de la fin de l'œsophage, à 660 μ de l'apex. Une larve longue de 1.400 μ a pour caractéristiques : largeur 16 μ, anneau nerveux à 52 μ et pore excréteur à 90 μ de l'apex. Œsophage musculaire long de 150 μ et œsophage glandulaire de 470 μ. Queue longue de 65 μ (fig. 44 B).

3. — Mécanisme d'inoculation à l'hôte définitif

Etant donné le caractère assez primitif de cette Filaire et l'existence de certaines analogies morphologiques avec les Physaloptères, nous avons cherché à voir si l'infestation de l'hôte définitif n'était pas possible par voie buccale. Plusieurs Mérions ont donc été inoculés par ingestion de larves infestantes ; ils sont restés constamment négatifs, et la transmission au Mérion s'effectue donc uniquement par piqûre d'Ornithodores infestés.

Le mécanisme exact de l'inoculation est difficile à préciser, car il est nécessaire de faire l'examen au moment du passage des larves. Cependant, chez un Ornithodore très richement infesté, qui se gorgeait depuis dix minutes sur un Mérion, nous avons eu la chance en arrachant la tique et en l'examinant aussitôt de voir six larves passant simultanément à travers les pièces buccales. Il en est resté quatre après fixation (fig. 46). Il serait indispensable de faire des

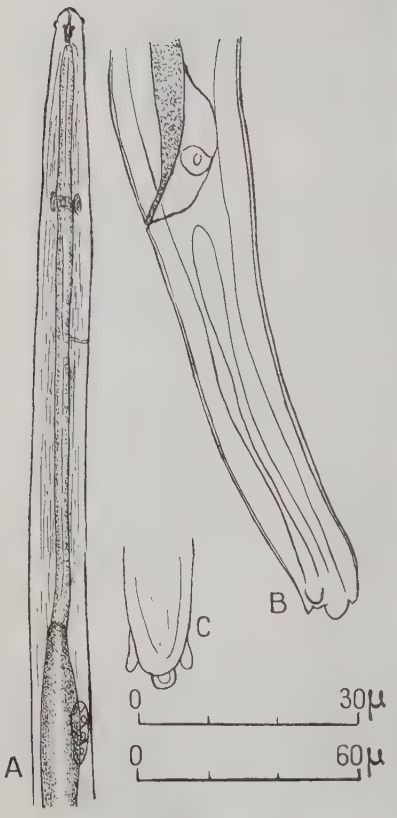


Fig. 44. — *Dipetalonema blanci*. Larve femelle du troisième stade. A, Extrémité antérieure ; vue latérale. — B, Extrémité postérieure ; vue latérale. — C, Pointe caudale ; vue ventrale. A, échelle 0-60 µ ; B, C, échelle 0-30 µ.

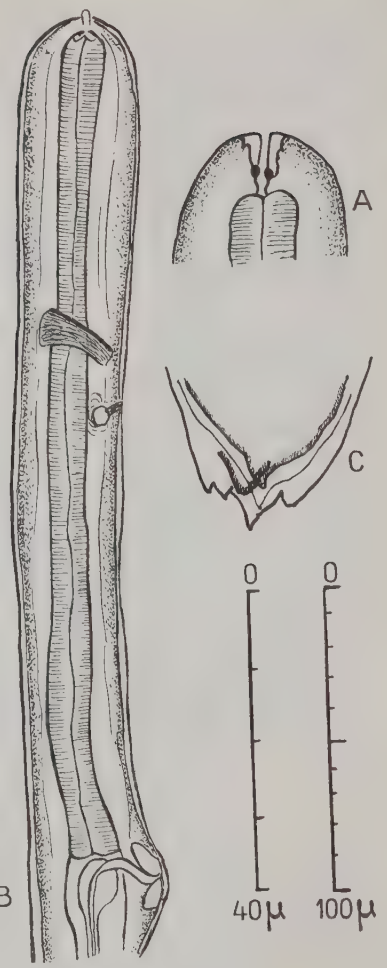


Fig. 45. — *Dipetalonema blanci*. A, Fin du troisième stade. Larve au 5e jour après l'inoculation. Extrémité céphalique ; vue latérale ; échelle 0-40 µ. — B, Quatrième stade. Larve au 10e jour après l'inoculation. Extrémité antérieure ; vue latérale ; échelle 0-100 µ. — C, Quatrième stade. Larve au 10e jour après l'inoculation. Extrémité postérieure ; vue latérale ; échelle 0-40 µ.

coupes au microtome pour pouvoir préciser la voie suivie par les Filaires, mais nous pouvons déjà affirmer qu'elles glissent entre les chélicères et l'hypostome de la Tique. Elles paraissent donc être inoculées plus directement dans la plaie que dans les cas où l'hôte intermédiaire est un Diptère.

4. — Développement chez l'hôte définitif

Quatre *Meriones libycus* sont inoculés par une ouverture faite dans la peau du dos, chacun avec environ 150 larves infestantes prélevées à la dissection d'*Ornithodorus tartakovskyi* expérimentalement infestés (1). Ils sont sacrifiés respectivement les 5e, 10e, 13e et 20e jour. Les larves sont retrouvées isolément dans les aponévroses des cuisses ou dans le tissu cellulaire sous-cutané ; il n'y a donc aucune migration générale et toute l'évolution paraît s'effectuer sur place.

Troisième stade larvaire

Larves du 5e jour après l'inoculation. — Le développement a été relativement lent et les larves ressemblent beaucoup à celles du stade infestant ; la bouche porte encore le même petit cylindre cuticulaire, qui paraît maintenant légèrement détaché du parenchyme voisin (fig. 45 A).

Une larve femelle a un corps long de 1.750 μ et large de 28 μ. L'œsophage musculaire et l'œsophage glandulaire sont longs respectivement de 210 et de 580 μ. Anneau nerveux à 100 μ et pore excréteur à 105 μ de l'apex. Queue longue de 85 μ. L'ébauche génitale, située à 180 μ de la tête, a la forme d'un cylindre coudé, la portion antérieure plus étroite, la portion postérieure enflée, et l'ensemble du massif cellulaire est long d'environ 40 μ.

Quatrième stade larvaire

Larves du 10e jour après l'inoculation. — Nous n'avons pas vu de larves en cours de mue, mais pensons avoir affaire au 4e stade larvaire, car la capsule buccale et la pointe caudale ont changé d'aspect. La troisième mue s'effectue donc probablement aux environs du 7e jour.

(1) Ce mode d'inoculation artificiel permet de mieux connaître la dose inoculée et n'a pas d'influence sur l'évolution ultérieure des Filaires. On trouve, en effet, des larves au même stade d'évolution chez le Mérion inoculé par cette méthode et chez un Mérion témoin inoculé par piqûres d'Ornithodores.

L'extrémité antérieure de l'œsophage porte un anneau réfringent qui ressemble déjà à la capsule buccale de l'adulte (fig. 45 B). La pointe caudale (fig. 45 C) est ornée de trois pointes principales et de dents accessoires ventrale et dorsale. Une larve femelle a pour dimensions caractéristiques : longueur du corps 4.150 μ, largeur maxima 40 μ. Œsophage musculaire long de 270 μ, œsophage glandulaire de 480 μ. Anneau

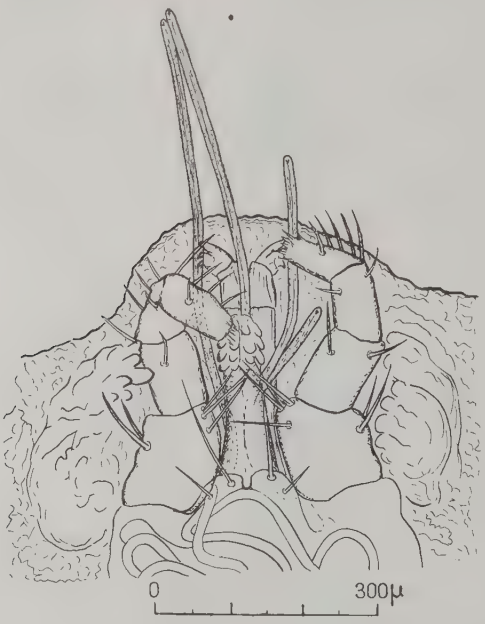


Fig. 46. — *Dipetalonema blanci*. Larves infestantes sortant des pièces buccales de l'*Ornithodorus tartakovskyi*.

nerveux et pore excréteur respectivement à 110 et à 125 μ de l'apex. Queue longue de 125 μ. Appareil génital déjà très bien formé, avec vulve à 285 μ de l'extrémité antérieure, imprimant sur la cuticule une petite empreinte arrondie.

Larves du 13e jour après l'inoculation. — La croissance a été très rapide puisque, en trois jours, les larves ont plus que doublé leur longueur, mais la structure reste très comparable, et ce ne sont guère que les proportions entre les différents organes qui ont varié.

Chez une larve femelle, longue de 9 mm. et large de 70 μ, l'œsophage musculaire est long de 410 μ et l'œsophage glandulaire de 600 μ. L'anneau nerveux et le pore excréteur sont à 142 et 150 μ de l'extrémité céphalique. La queue est longue de 210 μ. La vulve apparaît à 440 μ de l'apex. Elle est en relation avec un ovéjecteur, qui suit un trajet postérieur jusqu'au niveau de la fin de l'œsophage et se continue lui-même par deux tubes génitaux parallèles, se terminant à environ 3 mm. de l'extrémité antérieure.

Adultes

Au 21e jour d'infestation chez le Mérion, toutes les larves ont effectué leur dernière mue et sont adultes ; mais leur croissance va encore se poursuivre très longtemps.

Le 21e jour, les mâles sont longs de 13 à 17 mm. et les femelles de 15 à 21 mm. Le 37e jour, les mâles atteignent 21 à 24 mm. et les femelles, 30 à 44 mm. Les microfilaires commencent à apparaître dans le sang du Mérion, aux environs du 50e jour. Le 75e jour, les mâles mesurent en moyenne 30 mm. de long et les femelles 45 mm. Il faut donc, vraisemblablement, près de trois mois pour que les tailles maxima soient atteintes.

Discussion. — Des travaux anciens, généralement mal interprétés dans les traités classiques, semblent indiquer que le cycle évolutif du *Dipetalonema blanci* n'est pas un fait isolé et que d'autres *Dipetalonema* évoluent également chez des tiques.

1° *D. grassii* (Noé 1907), parasite du chien, a été étudié par Noé en 1908. L'auteur décrit son évolution chez *Rhipicephalus sanguineus* et donne une figure de l'avant-dernier stade chez le Rhipicéphale qui correspond parfaitement bien à ce que nous avons pu observer pour *D. blanci*. L'évolution paraît donc tout à fait comparable à celle de la Filaire du Mérion.

2° *D. reconditum* (Grassi 1889), qui vit à l'état adulte dans le tissu adipeux périrénal du chien, est généralement citée dans les traités comme évoluant chez des Moustiques. C'est là, nous semble-t-il, une erreur qui ressort nettement lorsqu'on analyse la bibliographie.

Calandruccio (1892) publie, en y apportant quelques compléments et en redonnant les mêmes figures, les travaux parus sous la signature de Grassi en 1888 et en 1890. Il décrit très correctement le cycle évolutif d'une Filaire du chien (à l'exception d'un 4e stade larvaire qui paraît être en réalité une larve de Spiruride). Cette évolution s'effectue chez la puce du chien, la puce du chat, la puce de l'homme

et des Rhipicéphales. L'adulte de cette Filaire est décrit en détail et se rapporte bien au « *Filaria recondita* » Grassi 1889, redécrit par Noé en 1907. Les auteurs désignent malheureusement les microfilaires sous le nom d' « Hématozoaires de Lewis ».

En 1923, Rao décrit à Madras un cycle de Filaire canine chez des moustiques. Il semble ne pas avoir étudié l'adulte, mais identifie les microfilaires à l' « Hématozoaire de Lewis », puisque celui-ci a été décrit aux Indes. Rao désigne sa Filaire sous le nom de *Filaria recondita* Grassi, en se basant sur l'identification de cette dernière avec l' « *Hæmatozoon lewisi* » faite par Neumann. Mais l'on sait maintenant que l'Hématozoaire de Lewis correspond en réalité à la microfilaire de *Dirofilaria repens*.

Nous croyons donc que deux Filaires distinctes ont été étudiées sous le même nom. Celle étudiée aux Indes par Rao semble avoir été déterminée sur la base des microfilaires du type « Hématozoaire de Lewis » et avoir été assimilée à tort à *D. recondita*. Il nous semble qu'elle se rapporte en réalité à *Dirofilaria repens*. De même, le travail de Sonsino, de 1889, qui indique *Hematopinus pilifer* (et non *Trichodectes latus*, comme il l'avait annoncé par erreur dans une publication préliminaire), paraît bien se rapporter à *Dirofilaria immitis* et non à *D. reconditum*.

Au contraire, la Filaire de Grassi et de Calandruccio est bien le *D. reconditum*, ainsi que le prouve la description de l'adulte. Les résultats de ces auteurs n'ont donc aucune raison d'être mis en doute. Il faut admettre pour hôtes intermédiaires de *D. reconditum* : *Pulex irritans*, *Ctenocephalides canis*, *C. felis* et *Rhipicephalus sanguineus*.

Les échecs des expériences de transmission au chien s'expliquent aisément, car, seule, l'inoculation par voie buccale a été tentée.

Nous croyons donc que ces expériences anciennes sont parfaitement valables et les Tiques nous paraissent être ainsi les principaux vecteurs des *Dipetalonema* primitifs.

Conclusions. — Le cycle de *D. blanci* s'effectue chez les deux espèces de Tiques (un Rhipicéphale sp. et l'*Ornithodorus tartakovskyi*) rencontrées dans les terriers de l'hôte définitif : le *Meriones libycus*, mais non chez certaines Tiques zoologiquement très proches des vecteurs naturels.

Ce cycle est très curieux par un mélange de caractères spécialisés et de caractères primitifs. Parmi les éléments du cycle qui nous paraissent montrer une forte adaptation, nous avons :

a) La spécificité relativement étroite dans le choix de l'hôte intermédiaire.

b) Le développement (au moins en partie) dans les muscles de l'Ornithodore.

c) L'évolution abrégée.

Si, comme nous l'espérons, notre observation n'a pas laissé échapper une mue supplémentaire, il semble bien que le second stade larvaire reste enclos pendant toute son évolution dans la dépouille du premier stade, et que la mue larvaire corresponde, au point de vue physiologique, à l'expulsion de deux mues superposées. Nous avons donc ici une adaptation très différente de celle qui a été observée chez *Spirura rytipleurites seurati*. Dans les deux cas, l'évolution paraît s'effectuer avec seulement l'intervention de trois mues, mais :

1) dans le cas du *Spirura*, les stades larvaires sont normaux et c'est le 4e stade qui est sexué ;

2) dans le cas de la Filaire du Mérion, il semble y avoir seulement l'expulsion retardée de la première dépouille larvaire, et la forme sexuée correspond en réalité à l'adulte.

d) Le mécanisme d'inoculation par passage des larves à travers les pièces buccales de l'Ornithodore au moment de la piqûre.

Au contraire, d'autres éléments sont atypiques pour un cycle de Filaire et rappellent l'évolution des Spirurides :

a) L'évolution chez l'hôte intermédiaire est relativement lente. La maturation de la larve s'effectue en 22 jours à 28°.

b) Il y a une absence totale de stade « en saucisse ». Le début du second stade larvaire est moins trapu que ne l'est le stade correspondant du *Synhimantus spinulatus* (fig. 34).

(*A suivre*).

LES GENITALIA FEMELLES DES TABANIDES ET LEUR IMPORTANCE EN SYSTÉMATIQUE

Par M. OVAZZA et R. TAUFFLIEB

Parmi les Tabanides, les *Chrysops* du sous-genre *Kleineana* jouent un rôle de premier plan dans la transmission des affections humaines, puisqu'ils sont les vecteurs de la filariose à *Loa loa*. D'autres Tabanides, en outre, tiennent une place importante dans l'épidémiologie des trypanosomiases du gros bétail en Afrique. Aussi l'identification de ces Diptères prend-elle de plus en plus d'importance.

S'il est, en général, aisé de différencier les diverses espèces de *Chrysops* il n'en est pas de même en ce qui concerne les espèces appartenant aux autres genres, surtout quand les spécimens sont secs. La morphologie des genitalia a fort peu été utilisée pour la classification des Tabanides, car les mâles sont difficiles à trouver, particulièrement dans la région éthiopienne. En ce qui concerne les femelles, la plupart des auteurs considèrent leurs pièces génitales comme inutilisables en systématique : Brygoo (1950), après avoir disséqué un certain nombre d'espèces, n'accorde aucune valeur spécifique à ces structures. J. E. Collin (1940), qui a étudié les femelles de trois *Therioplectes* de Grande-Bretagne, considère comme probablement utilisables les cerques et la plaque ventrale. H. Oldroyd (1952) pense que certains caractères, comme la forme des spermathèques, sont des caractères de groupe, mais que d'autres particularités peuvent, dans certains cas, aider à l'identification.

Nous avons disséqué les femelles de 25 espèces de Tabanides de l'Afrique Equatoriale française. Ces espèces appartiennent aux genres : *Tabanus*, *Haematopota*, *Hippocentrum*, *Tabanocella* et *Chrysops*. Nous avons pu, en outre, disséquer un *Dorcolaemus* qu'a bien voulu nous confier M. le Pr Roubaud ; enfin, à Londres, le Dr Oldroyd nous a permis d'étudier deux exemplaires de *Tabanus* et un *Thaumastocera* de la collection du British Museum (*). Dans

(*) Ce travail, commencé à l'Institut Pasteur de Brazzaville et à l'Institut d'Etudes Centrafricaines, a été achevé à l'Institut Pasteur de Paris, Service de M. le Prof. Roubaud, Laboratoire de M. le Dr Grenier.

l'état actuel de nos connaissances, il nous semble que les genitalia ♀ fournissent des caractères utiles pour l'identification. Nous avons d'autre part l'impression qu'un de ces caractères (la forme des spermathèques) permet de séparer les deux sous-familles : ***Tabaniinæ*** et ***Pangoniinæ***.

Dans ce premier travail nous donnerons, dans une première partie, une étude de la morphologie de ces pièces (historique des connaissances, discussion, essai d'interprétation) et une rapide description des caractères qui nous ont paru utilisables, en soulignant les différences existant entre les deux sous-familles. La deuxième partie comprendra la description des genitalia de quatre espèces appartenant à la sous-famille des *Pangoniinæ* (*Tabanocella stimulans* Aust. et trois *Chrysops* du sous-genre *Kleineana* : *Chr. silacea* Aust., *Chr. dimidiata* V. der W., *Chr. longicornis* Macq.). Dans les articles ultérieurs, nous décrirons les autres espèces que nous avons pu étudier.

I. — Morphologie. Les caractères utilisables.

A) Historique :

Patton et Cragg (1913) considèrent que chez la femelle les segments terminaux télescopés forment une sorte d'ovipositeur. Celui-ci serait composé : d'une *plaque dorsale*, équivalant au tergite VIII, deux petites *plaques latérales* représentant les tergites IX et X et séparés en deux moitiés latérales, *deux plaques anales* leur faisant suite et se projetant à l'extrémité de l'abdomen (ces plaques anales représenteraient le tergite XI). La paroi ventrale est formée d'une seule *plaque médiane* représentant, peut-être, les sternites correspondants. Pour ces auteurs, le plus grand fractionnement de la paroi dorsale permettrait à l'ovipositeur de se courber vers le bas lors du dépôt des œufs. Plus loin, à propos des organes génitaux internes, Patton et Cragg signalent (p. 137) : « Sur la poche copulatrice... existe un support chitineux portant une série de petites

Nous tenons à remercier : M. le Médecin-Colonel Ceccaldi, Directeur de l'I.P. de Brazzaville, et M. le Prof. Trochain, Directeur de l'I.E.C., qui nous ont fourni les moyens permettant de faire ce travail ; M. le Prof. Roubaud, chez qui nous l'avons achevé, et qui nous a procuré un genre (*Dorcoleamus*) qui nous manquait ; M. le Dr P. Grenier, qui nous a conseillé, a revu nos dessins et nous a considérablement aidé pour l'interprétation morphologique ; M. le Dr H. Oldroyd, du British Museum, qui a vérifié nos identifications et a accueilli l'un de nous dans son laboratoire, où il l'a aidé de ses conseils et lui a permis de disséquer un exemplaire de *Thaumastocera*, genre que nous n'avions pu capturer.

épines qui, apparemment, s'engrènent avec les pièces génitales mâles pendant la copulation. » Ils décrivent les spermathèques comme de longs tubes fins, repliés en leur milieu et dont l'extrémité aveugle, légèrement renflée, est attachée à la paroi de l'oviducte près de l'origine du tube. La paroi interne de ce tube est formée d'une chitine qui s'épaissit vers l'extrémité et présente une striation transversale. A la base de chaque tube, là où il se jette dans la poche copulatrice, se trouve un collier chitineux épais en forme de cheminée, entourée d'une série de filaments spiralés comme une trachée.

E. Séguy (1950 et 1951) donne, dans deux publications, des dessins de pièces génitales de Tabanides ; il fournit en outre, dans le premier de ces deux travaux, une interprétation morphologique de cet appareil chez les Diptères en général (1950, p. 62) : « Chez la femelle l'ovipositeur, tarière ou oviscapte, modifie, comme chez le mâle, les segments VII à X. Le segment X est composé de quatre pièces entourant l'anus : une *plaque tergale* triangulaire, une *plaque sternale* arrondie, portant aux angles deux prolongements chitineux et une paire de *lamelles terminales* (cerques) articulées avec les plaques sternales et tergales. Les cerques correspondent aux gonapophyses de l'appareil génital mâle et protègent l'ouverture anale. » Dans le dessin correspondant aux Tabanides cet auteur fait figurer une plaque ventrale qu'il nomme « *lamelle ventrale unique* ».

Pour Collin (1940) la lamelle ventrale de Séguy serait le 8e sternite.

B) Observations personnelles :

Nos propres observations nous ont permis de constater l'existence des sclérites suivants (cf. fig. 1, A et coupes B et C), le 7e segment est le dernier visible sur un spécimen sec. La dissection montre qu'il existe, invaginé à l'intérieur de celui-ci, un 8e anneau complet avec sternite (ST VIII) et tergite (T VIII) ; dans l'espace limité par cet anneau sont contenues les pièces suivantes : dorsalement 4 petits sclérites groupés deux par deux autour d'une membrane en croix (c) que nous appelons *plaques basales des cerques ;* elles sont suivies d'une paire de lamelles (c') qui sont les *cerques* des auteurs. Ventralement, par rapport à cet ensemble, une lame impaire ou *lamelle dorsale* (f) en forme de triangle ou de losange à angles arrondis ; la dissection la montre reliée à l'ensemble (c) par des membranes latérales et réunie, de la même façon, à un grand

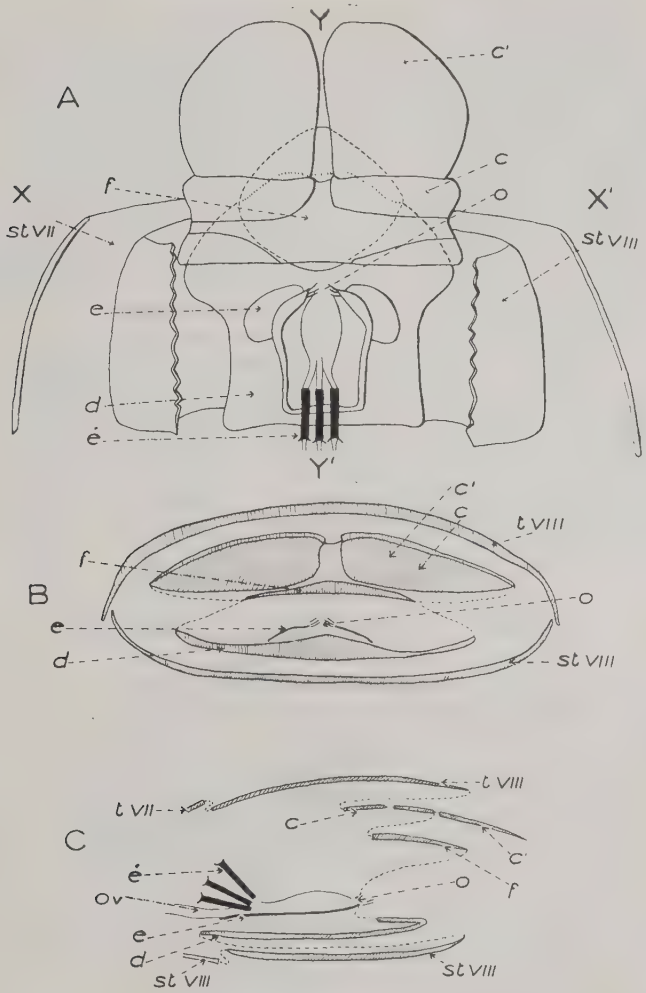


Fig. 1. — Schéma général des genitalia ♀ de Tabanides. A : vue d'ensemble dorsale, tergites VII et VIII enlevés ; B : coupe selon X-X' (sans le septième segment) ; C : coupe selon Y-Y', ST VIII : sternite VIII ; T VIII : tergite VIII ; ST VII : sternite VII ; T VII : tergite VII ; c : pièces basales des cerques ; c' : cerques ; d : plaque ventrale ; e : furca ; e' : manchons chitineux des spermathèques ; f : plaque dorsale ; o ; orifice génital femelle ; ov: oviducte.

sclérite impair ventral. Ce dernier que nous appellerons *plaque ventrale* (d) est en forme de pentagone irrégulier lorsqu'il est vu en plan, mais lorsqu'il est vu en coupe il présente à son extrémité distale un assez large repli ventral. C'est dans l'anneau formé par ces plaques dorsales et ventrales que se situent la poche copulatrice avec le sclérite décrit par Patton et Cragg, les spermathèques et les glandes annexes.

L'interprétation nous paraît assez difficile. Nous éliminerons tout d'abord l'idée émise par Collin que la plaque impaire ventrale (f) est un 8e sternite, puisque nous avons toujours trouvé ce dernier bien individualisé. La description de Patton et Cragg nomme plaque dorsale le 8e sternite et mentionne, d'autre part, deux petites plaques seulement avant les cerques. Les dessins de ces auteurs ne montrent pas de sclérite correspondant à ce que nous appelons la plaque dorsale. Il est possible cependant que la présence de quatre « plaques basales des cerques » ne soit pas constante chez les Tabanides. En effet, chez *Chrysops longicornis* Macquart (cf. fig. VIII, B) ces pièces semblent réunies deux par deux par leurs bords externes, de telle sorte qu'il n'y a, en réalité, que deux pièces symétriques. Par contre, l'existence de la « plaque dorsale » nous a semblé constante.

C) Caractères utilisés pour l'identification. Les deux sous-familles :

La figure II donne un exemple des différentes pièces chez *Haematopota abyssinica* Surcouf. Par la suite nous ne représenterons pas la plaque dorsale, car elle ne nous a pas semblé fournir de caractères différentiels sûrs. Nous ne représenterons pas non plus les longs poils qui garnissent les cerques, les plaques dorsales et ventrales, n'ayant pu constater de différences dans la pilosité d'une espèce à l'autre. Les caractères permettant de différencier les espèces nous semblent plutôt formés par l'ensemble des variations des différentes pièces que par l'aspect de l'une de ces pièces en particulier. Il faut cependant noter que la forme de la plaque ventrale est, en général, plus significative que celle des cerques. Souvent ce sclérite présente un certain « air de famille » entre espèces voisines. A cet égard et chez tous les *Tabaniinæ* que nous avons examinés, il présente une chitinisation plus accentuée latéralement qu'en son milieu ; il est, en outre, marqué d'un certain nombre de stries ou plis transversaux (fig. II, D). Au contraire, chez *Tabanocella* et les trois *Chrysops* (fig. V, VI, VII, VIII), sa chitinisation est uniforme et sa surface unie.

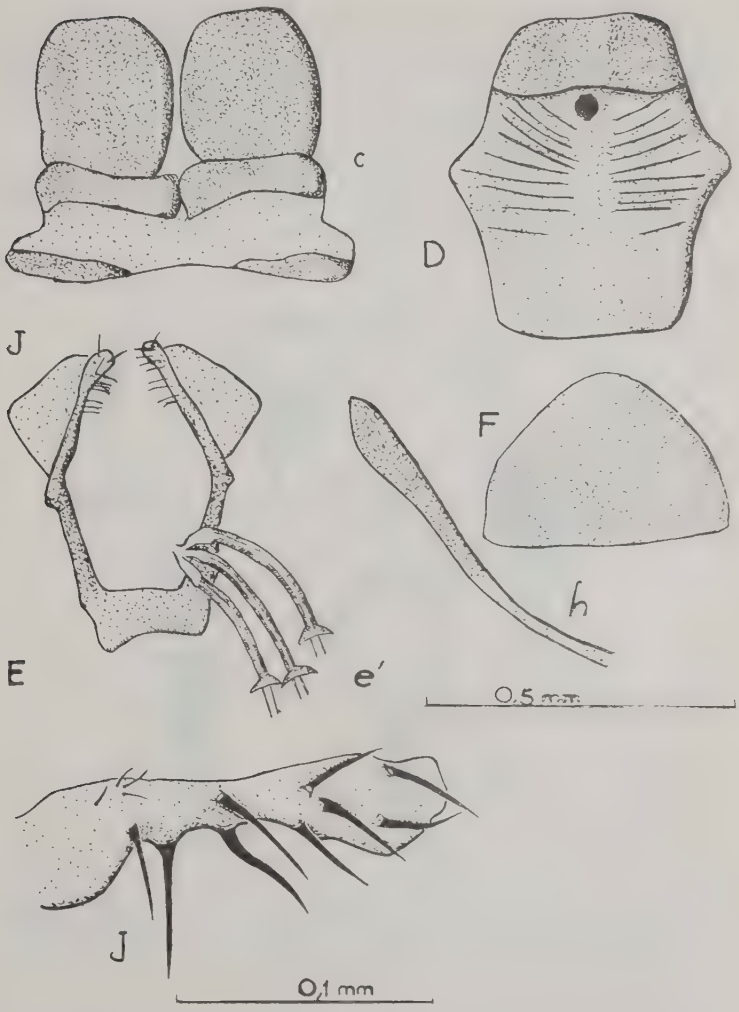


Fig. 2. — Differentes pièces génitales d'un Tabanide ♀ (*Hæmatopota abyssinica* Surcouf), c : cerques et leurs plaques basales ; D : plaque ventrale ; E : furca ; F : plaque dorsale ; J : extrémité distale d'un bras de la furca avec la « brosse » (e' : manchons des canaux des spermathèques ; h : une spermathèque).

Le sclérite de la poche copulatrice a été signalé par Patton et Cragg. J. E. Collin (*loc. cit.*) n'en parle pas, bien qu'une des photographies jointes à son travail le représente. Le sclérite se trouve

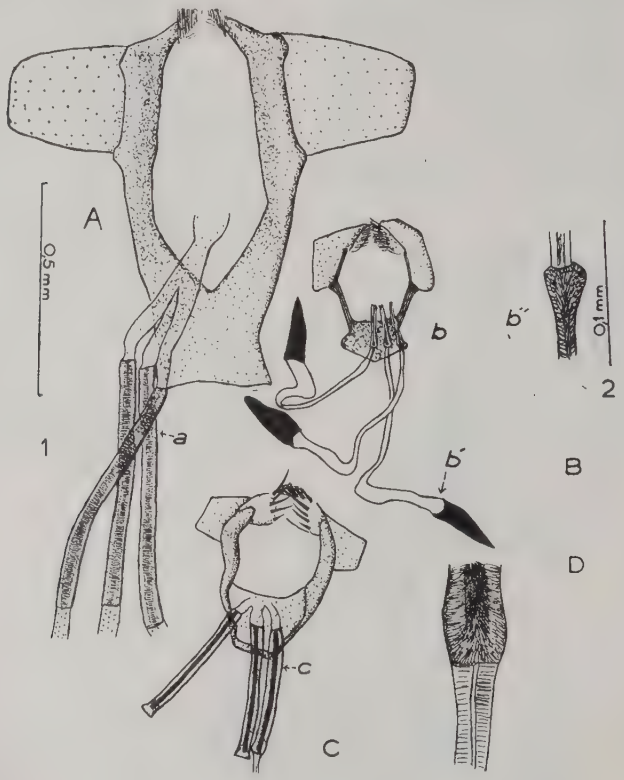


Fig 3. — Furca chez les *Pangoniinæ*. A : *Dorcolæmus* sp. ; B : *Chrysops longicornis* Macquart ; C : *Tabanocella stimulans* Austen ; D : détail du manchon de *T. stimulans*. (a, b, c : manchons des canaux des spermathèques ; b' : spermathèques ; b" : détails des manchons de B ; (1) : échelle de A, B, C ; (2) : échelle de D et b").

sur la face dorsale de la poche copulatrice. D'après sa situation topographique, nous pouvons l'assimiler à la furca connue chez d'autres insectes. Sa forme générale est celle d'une lyre avec une base plus ou moins étendue selon les espèces et deux bras remontant vers l'orifice génital. A l'extrémité de ces bras se trouvent les

brosses de petites épines ou de poils courts dont parlent Patton et Cragg ; ces brosses sont parfois placées sur de petites pièces assez nettement distinctes des bras eux-mêmes. C'est entre ces brosses que se situe l'orifice génital femelle (fig. I, O). A propos de cette furca il faut signaler deux plaques, un peu moins chitinisées, se trouvant de part et d'autre de son extrémité et en continuité avec lui ; les glandes annexes, dont l'orifice s'ouvre dans la poche copulatrice, semblent reposer sur ces plaques. Du côté dorsal et entre les bras de la furca, apparaissent les trois manchons qui se trou-

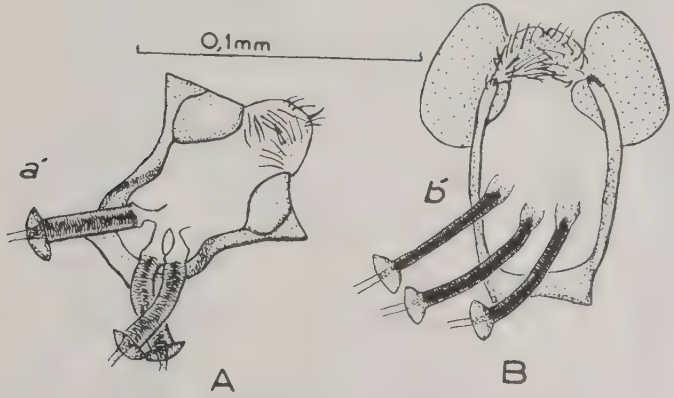


FIG. 4. — Furca chez les *Tabaniinæ*. A : *Hippocentrum strigipunne* Karsch (a' : manchons) ; B : *Tabanus severinii* Surcouf (b' : manchons)

vent à l'origine des canaux des spermathèques (fig. II, c'). Au niveau des manchons, se termine l'oviducte (fig. I, ov). Ce sont ces manchons qui nous ont paru caractéristiques des deux sous-familles. Ainsi que le montrent les figures II, III et IV et dans l'état actuel de nos connaissances, ils sont simples chez les *Pangoniinæ* (genres *Chrysops*, *Tabanocella*, *Dorcolaemus*) alors qu'ils présentent chez les *Tabaniinæ* (genres *Tabanus*, *Haematopota*, *Hippocentrum*), à leur jonction avec le tube membraneux, une sorte de cupule lisse bien différenciée. Il est possible que la prise en considération de ce caractère remette en question la position du genre *Thaumastocera* Grünberg, habituellement placé dans les *Tabaniinæ*. Surcouf (1922) l'a considéré comme un terme de passage entre les deux sous-familles, bien que plus proche des *Haematopota* et l'a finalement classé dans les *Tabaniinæ*. E. Brumpt, dans un dessin de son *Précis de Parasitologie* le range dans les *Pangoniinæ*. Pour Séguy (1946)

c'est un *Tabaniinæ*. A Londres le Dr Oldroyd a confié à l'un de nous qu'il n'était pas certain que l'inclusion de ce genre dans la sous-famille des *Tabaniinæ* soit justifiée et, comme nous lui avions fait part de nos observations concernant le caractère en question, nous a proposé de disséquer un exemplaire de *Thaumastocera* sp. Cette dissection nous a révélé alors la présence des manchons caractéristiques des *Pangoniinæ* et d'une furca dont la forme se rapprochait de celui des *Chrysops*, bien que les spermathèques soient très différentes de celles, très typiques, de ce genre. Il est probablement prématuré de conclure sur ce seul caractère à l'appartenance du g. *Thaumastocera* à la sous-famille des *Pangoniinæ* ; cependant, puisque Surcouf (*loc. cit.*) le considérait comme un terme de passage entre les deux sous-familles, nous sommes portés à admettre que l'aspect des genitalia ♀ fait pencher la balance en faveur du rattachement aux *Pangoniinæ*. Il est vrai que ce même auteur emploie comme argument pour le rattachement aux *Tabaniinæ* l'aspect des genitalia, voisins, dit-il, de ceux des *Chrysozona* (*Haematopota*) ; comme Surcouf ne spécifie pas le sexe, il est permis de supposer qu'il s'agissait de genitalia ♂ que nous n'avons pas examinés.

II. — Sous-famille *PANGONIINÆ*

Les figures V à VIII se rapportent à quatre espèces de cette sous-famille appartenant aux genres *Tabanocella* et *Chrysops* (sous-genre *Kleineana*).

I. — Genre *Tabanocella* : *Tabanocella stimulans* Austen

Chez cette espèce, la plaque ventrale (fig. V, A) a, dans l'ensemble, l'aspect d'un rectangle avec deux expansions latérales prononcées, ce qui la rapproche de la forme hexagonale fréquente chez les *Tabanus* ; mais elle ne présente ni les renforcements latéraux, ni les stries transversales des *Tabaniinæ* que nous avons vus. Les cerques (fig. V, B) sont nettement pentagonaux, avec une échancrure peu marquée à l'apex. La furca (fig. V, C) est ovalaire, sans angles nets en dehors des appendices supportant les glandes annexes ; sa base est assez étendue et représente près du tiers de la longueur ; moins chitinisée au centre, elle semble entourée par les bras. Les brosses de l'orifice génital (fig. V, *e* et E) sont portées sur des pièces triangulaires nettement individualisées à l'extrémité des branches du sclérite que nous venons de décrire ; elles sont formées de 6 poils relativement longs et forts, disposés en une seule rangée. Les manchons des spermathèques (fig. V, *c'*) sont simples, non dilatés à leur union avec le tube membraneux ; celui-ci, de largeur uni-

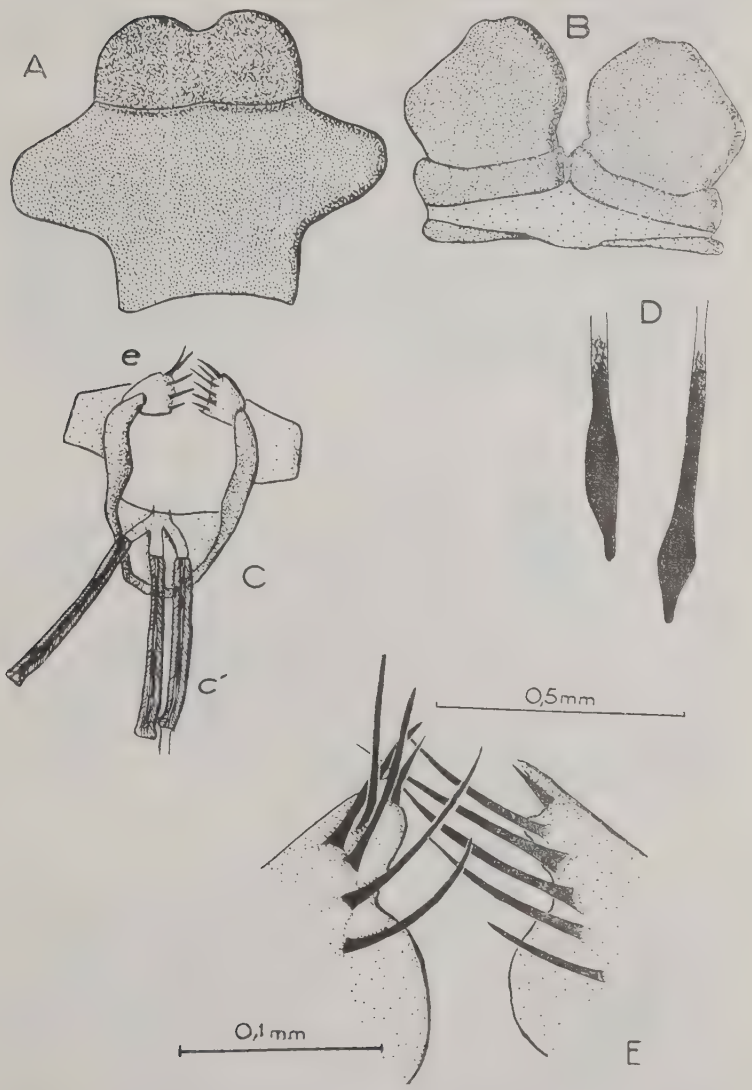


FIG. 5. — *Tabanocella stimulans* Aust. A : plaque ventrale ; B : cerques ; C : furca (e' : manchons ; e : orifice) ; D : spermathèques ; E : brosses.

forme sur presque toute sa longueur, se termine par des poches fortement chitinisées, élargies dans leur partie moyenne, tandis que l'extrémité aveugle est effilée (fig. V, D).

2. — Genre *Chrysops* Meigen, sous-genre *Kleineana*

Les trois espèces que nous avons disséquées ont beaucoup de caractères communs. La plaque ventrale présente des angles très arrondis, sans expansions latérales, ni zones plus chitinisées et n'est pas striée transversalement. La furca montre une base très importante, occupant au moins un tiers de sa longueur. Les spermathèques sont très développées par rapport à la taille de l'animal et aux autres pièces ; le tube membraneux qui les forme s'élargit très fortement, triplant environ de diamètre, bien avant la portion chitinisée ; celle-ci, en forme de flamme, est séparée du reste par une limite nette.

Chrysops silacea Austen (fig. VI)

Les cerques (fig. VI, A) ont l'aspect de quadrilatères aux angles arrondis. La plaque ventrale (fig. VI, B), plus large à la base qu'à l'apex, présente sa plus grande largeur assez près de la base. Elle n'est pas nettement anguleuse. La furca (fig. VI, C) est en forme de lyre à angles arrondis, ses expansions latérales sont triangulaires. Chacun des bras de la furca présente deux zones d'élargissement, une dans la partie moyenne et une dans le tiers distal. Les brosses (fig. VI, *e* et E), formées de 19 à 20 poils assez courts, sont portées par des pièces petites et peu distinctes. Les spermathèques (fig. VI, D) présentent un étranglement peu avant la portion membraneuse et sont marquées d'une série d'impressions allongées dans le sens transversal et réparties sans ordre. Les manchons (fig. VI, *c'* et F) sont simples et non dilatés.

Chrysops dimidiata Van der Wulp (fig. VII)

Les cerques (fig. VII, B) sont ici plus allongés et de forme plus irrégulière. La plaque ventrale (fig. VII, A) est à peine plus large à la base qu'à l'apex ; sa plus grande largeur se trouve presque en son milieu ; le triangle plus chitinisé de la base est moins proéminent que chez *Ch. silacea*. La furca (fig. VII, C), plus allongée, présente une base aux angles inférieurs nets et dont les bords externes sont anguleux ; ses bras, par contre, sont de largeur régulière. Les expansions supportant les glandes annexes sont rectangulaires. Les brosses (fig. VII, *e* et E), portées par des pièces nettement visibles, sont formées de treize petites épines courtes et fines, groupées en deux rangs, sauf les trois dernières, qui forment un triangle. Le manchon chitineux (fig. VII, *c'* et F) est un peu

élargi à son union avec le tube membraneux. Les spermathèques (fig. VII, D), de forme très voisine de celle de *C. silacea*, portent des impressions punctiformes.

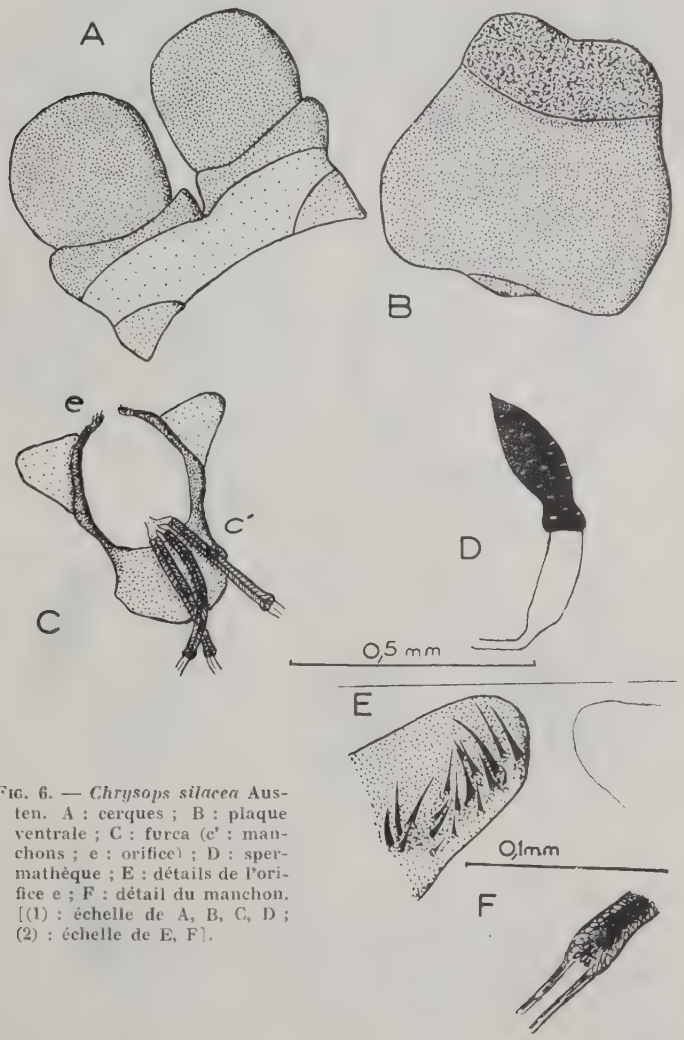


Fig. 6. — *Chrysops silacea* Austen. A : cerques ; B : plaque ventrale ; C : furca (c' : manchons ; e : orifice) ; D : spermathèque ; E : détails de l'orifice e ; F : détail du manchon. [(1) : échelle de A, B, C, D ; (2) : échelle de E, F].

Chrysops longicornis Macquart (fig. VIII)

La plaque ventrale (fig. VIII, A) est nettement plus large que longue ; sa plus grande largeur est relativement proche de la base et nettement marquée ; la base, presque rectiligne, présente, en son milieu, une petite saillie anguleuse, mais pas de triangle particulièrement chitinisé, comme chez les deux espèces précédentes. Les cerques (fig. VIII, B) ressemblent

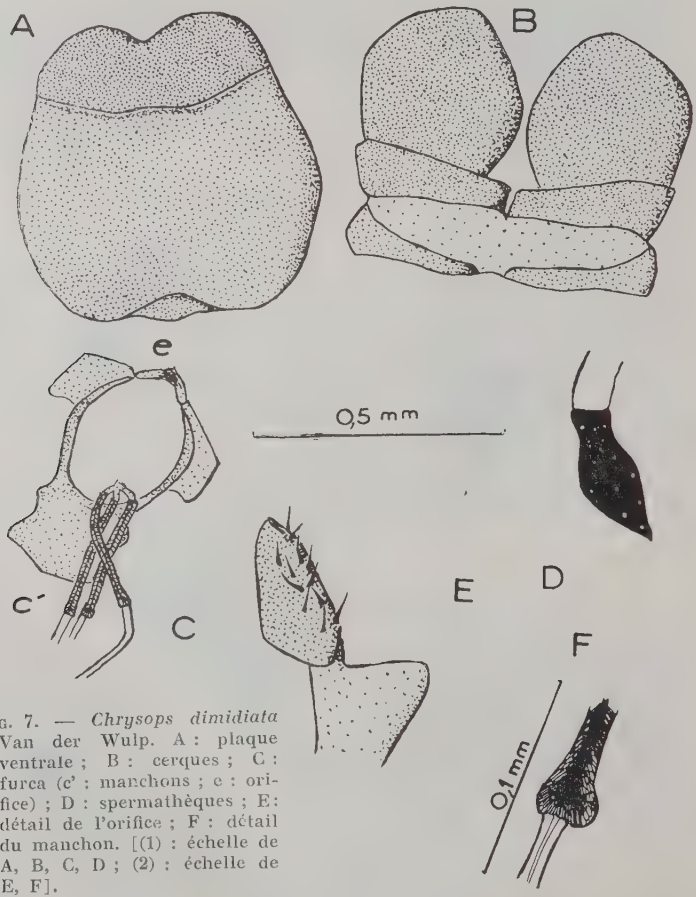


Fig. 7. — *Chrysops dimidiata* Van der Wulp. A : plaque ventrale ; B : cerques ; C : furca (c' : manchons ; e : orifice) ; D : spermathèques ; E : détail de l'orifice ; F : détail du manchon. [(1) : échelle de A, B, C, D ; (2) : échelle de E, F].

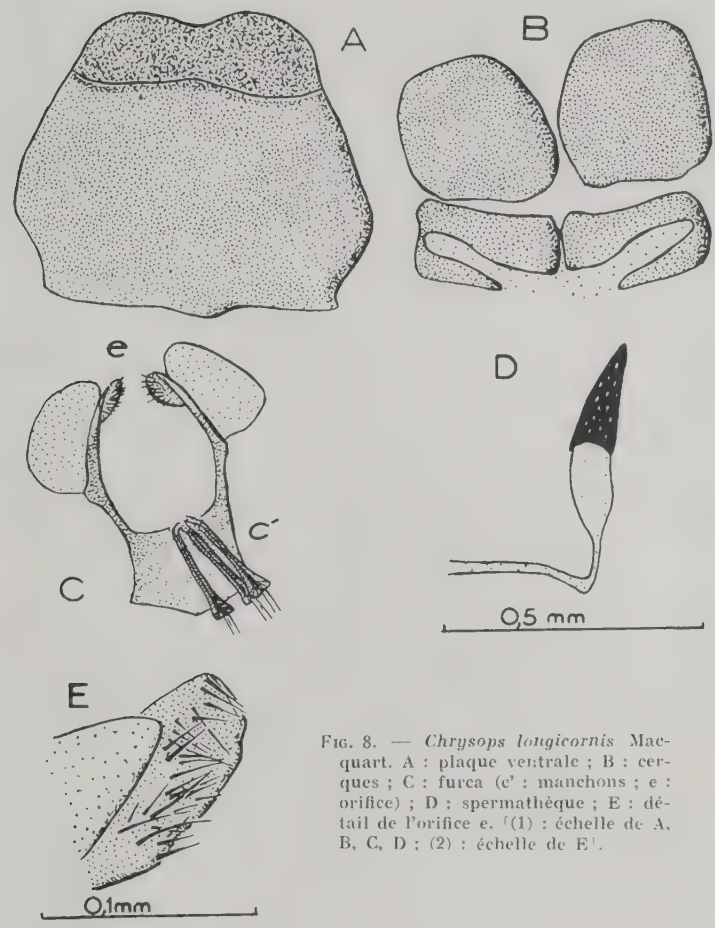


FIG. 8. — *Chrysops longicornis* Macquart. A : plaque ventrale ; B : cerques ; C : furca (c' : manchons ; e : orifice) ; D : spermathèque ; E : détail de l'orifice e. (1) : échelle de A, B, C, D ; (2) : échelle de E.

assez à ceux de *C. silacea*, mais, ainsi que nous l'avons dit plus haut, leurs pièces basales ne paraissent formées que de deux sclérites symétriques au lieu de quatre en raison de l'union étroite de ces pièces du côté externe ; leur forme contournée est caractéristique. La furca (fig. VIII, C) a, chez cette espèce, comme chez les deux précédentes, une base à angles nets, mais cette base ne présente aucun élargissement latéral ; les bras de la furca sont au contraire élargis à peu près à la moitié de

leur longueur ; les deux expansions des glandes annexes sont allongées et plutôt ovalaires. Les brosses de l'orifice génital (fig. VIII, *e* et E) sont portées par de petites pièces nettement visibles, situées à l'intérieur des bras et non à leur extrémité ; elles se composent d'environ 25 poils assez courts et très fins, disposés sans ordre apparent. Les manchons chitineux (fig. VIII, *c'*) sont très nettement élargis avant leur jonction avec le canal membraneux. Les spermathèques (fig. VIII, D) ne portent pas de rétrécissement dans leur partie chitineuse et sont ornées d'impressions allongées dans le sens de la longueur.

Bibliographie

Brygoo (E. R. R.). — Tabanides d'Ayos. *Bull. Soc. Etudes Camer.*, 1950.

Collin (J. E.). — A note on certain structural distinctions between females of *Therioplectes tropicus* L., *solstitialis* Mg. and *distinguendus* Verr. *The Entom. Month. Mag., 76,* 1940, p. 78-79.

Oldroyd (H.). — The Horse-flies (Dipt. Tabanidæ) of the Ethiopian region, vol. I, *Hæmatopota* and *Hippocentrum*. *Publ. British Museum* (Nat. Hist.), 1952.

Patton (W. E.) et Cragg (F. W.). — *A textbook of Medical Entomology,* 1913.

Séguy (E.). — Tabanides nouveaux et peu connus d'Afrique. *Tabanus* des groupes *maculatissimus* et *latipes ;* description d'un nouveau *Thaumastocera. Encycl. Entom., Diptera,* sér. B, *2,* 1946, n° 10, 22-26.

— *La biologie des Diptères,* P. Lechevallier édit., Paris, 1950.

— Diptères ; généralités *in* P.-P. Grassé : *Traité de Zoologie Générale,* Masson édit., Paris, 1951.

Surcouf (J.-M.-R.). — Diptères nouveaux ou peu connus. *Ann. Soc. Entom. France, 91,* 1922, (5), p. 237-244.

(Institut Pasteur de Brazzaville,
Institut d'Etudes centrafricaines,
Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer)

ESSAIS DE CULTURE DES *ECCRINA FLEXILIS* LÉGER ET DUBOSCQ TRICHOMYCÈTES ENDOCOMMENSAUX DES *GLOMERIS MARGINATA* VILLERS

Par **Jehanne-Françoise MANIER**

Depuis 1849, date à laquelle Leidy identifiait scientifiquement le premier représentant des Trichomycètes, de nombreux auteurs ont contribué à faire connaître ce groupe, soit par des notes monographiques (1), soit par des Mémoires plus encyclopédiques présentant l'ensemble de nos connaissances sur ces organismes (Duboscq, Léger et Tuzet, 1948 ; Manier, 1950, 1954).

A l'exception des Amoebidiacées ectocommensaux, considérés comme des Protrichomycètes, tous les autres Trichomycètes sont endocommensaux d'Arthropodes et vivent fixés et appliqués à la cuticule chitineuse de l'intestin postérieur de leur hôte. Jusqu'à maintenant, les Trichomycètes ont été étudiés au point de vue morphologique, cytologique, physiologique, évolutif et écologique, mais personne n'a tenté de les cultiver, de les faire vivre en dehors de leur hôte.

La culture d'un organisme parasite présente un intérêt en elle-même ; en outre, dans le cas présent, une culture florissante pourrait éclairer le problème encore litigieux des véritables affinités des Trichomycètes et de leur classification dans l'ensemble du monde vivant. Cette question nous ayant, à plusieurs reprises, préoccupée, nous avons entrepris une série d'essais pour tenter de cultiver les Trichomycètes (2).

Ces premières expériences ont été faites uniquement au moyen de

(1) Pour les références bibliographiques concernant les Trichomycètes, se reporter aux travaux de Duboscq, Léger et Tuzet (1948), Manier (1950-1954).

(2) Je remercie bien vivement M. le Professeur Bessière, qui m'a largement ouvert les portes de son laboratoire pour ce travail. Ses conseils pour toutes les techniques bactériologiques employées et ceux de son Assistante, Mme Riche, m'ont été particulièrement utiles.

filaments d'*Eccrina flexilis* Léger et Duboscq vivant dans l'intestin postérieur des *Glomeris marginata* Villers.

Le choix de ce matériel relève uniquement d'une question d'ordre pratique ; les *Glomeris marginata* sont très nombreux dans les garigues des environs de Montpellier ; ils se conservent longtemps en laboratoire et hébergent d'une façon à peu près constante des *Eccrina*.

Pour ces essais, nous avons emprunté à la bactériologie le principe de cultures dans une verrerie stérile, sur milieux préalablement stérilisés, et nous avons observé les précautions habituelles d'asepsie. Mais il est impossible de pratiquer les cultures de Trichomycètes dans des tubes, dans des boîtes de Piétri ou même sur des lames gélosées placées dans des récipients stérilisés, car il faut pouvoir suivre au microscope la très lente évolution des Trichomycètes. La seule méthode applicable ici est celle des cultures cellulaires ou en goutte pendante. On utilise pour cela des *cuves de Ranvier* faites au moyen d'anneaux de verre fixés sur des lames avec de la lanoline stérilisée. On place, au-dessous du centre d'une lamelle, une goutte du milieu de culture dans laquelle on dépose les *Eccrina* à cultiver. Cette lamelle sert ensuite à fermer la cellule de Ranvier dont le bord libre de l'anneau a été, lui aussi, préalablement enduit de lanoline. Pour maintenir l'humidité et éviter le plus longtemps possible l'évaporation de la goutte pendante, on place au fond de la cellule quelques gouttes d'eau stérile ; il faut aussi vérifier que l'adhérence de l'anneau à la lame et à la lamelle est parfaite. Ces cultures ont été faites au cours du dernier trimestre de l'année 1953 et en janvier 1954 ; elles ont été placées dans un placard, à l'abri de la lumière et laissées à la température du laboratoire, c'est-à-dire généralement à une température de 17 à 19° sauf durant les jours de congé pendant lesquels, le chauffage ne marchant pas, la température peut baisser jusqu'à 2 ou 3°.

Dans cette première série d'essais, nous avons ensemencé des filaments végétatifs et des filaments à arthrocystes. Les spores durables des Trichomycètes se formant seulement durant une très courte période, au moment de la mue de leur hôte, il est très difficile de se procurer des spores durables pour de nombreux ensemencements dans des milieux variés. Pour ne pas blesser les filaments d'*Eccrina*, qui, à la moindre rupture de leur membrane d'enveloppe, se vident plus ou moins complètement et ne tardent pas à mourir, les Trichomycètes ont été prélevés et repiqués dans le milieu de culture avec une petite portion de la cuticule chitineuse intestinale à laquelle ils sont fixés par leur pavillon.

Les milieux employés sont des milieux pauvres et naturels :

1) Pour essayer de replacer les parasites dans un milieu aussi voisin que possible de leur milieu naturel, nous avons fait macérer, pendant une heure, 2 grammes de déjections de *Glomeris* dans 100 cc. d'eau de source et nous avons seulement filtré sur bougie. Le filtrat obtenu est gélosé à 2/1.000, au moyen d'une solution de gélose stérile.

2) Milieu au crottin de cheval ; ce milieu a été fait comme le précédent, mais en remplaçant les déjections de *Glomeris* par du crottin de cheval.

3) Milieu à l'eau de carotte : on fait macérer 2 grammes de pulpe dans 100 cc. d'eau de source pendant une heure ; on fait bouillir pendant cinq minutes ; on filtre sur coton hydrophile ; on stérilise enfin pendant 20 minutes à 120°.

4) Milieux aux grains de céréales. Nous avons mis 10 grains d'orge au fond d'un tube, avons jeté 15 cc. d'eau de source et avons stérilisé ce milieu en le portant pendant vingt minutes à 120°, à deux reprises, à un jour d'intervalle. Nous avons laissé reposer le milieu et avons prélevé dans un nouveau tube stérile la zone supérieure limpide, qui a été gélosée à 2/1.000. Nous avons fait deux autres milieux de culture en remplaçant les 10 grains d'orge par 10 grains de blé ou un grain de maïs.

La première constatation que l'on peut faire est la remarquable résistance des *Eccrina* quand on les place dans un milieu de culture. Pratiquement dans tous les milieux mentionnés ci-dessus, on peut conserver pendant plusieurs jours des *Eccrina*, sans que ceux-ci manifestent le moindre symptôme de dégénérescence (la dégénérescence des Trichomycètes se signale d'abord par la localisation du cytoplasme en plages séparées les unes des autres par de grands espaces vides, ensuite leurs tubes se froissent, décrivent des lignes brisées). C'est avec les milieux faits avec des déjections de *Glomeris* et ceux aux grains de céréales que nous avons obtenu les meilleurs résultats. Ainsi, pendant 2 mois et demi, nous avons conservé en parfait état des *Eccrina*, dans un milieu fait avec des déjections de *Glomeris* et renouvelé trois fois. C'était malheureusement nos premiers essais, nous les avions faits sur lame creuse, dans des boites de Pétri et il a été impossible de suivre avec précision les progrès possibles de la culture.

Pour éviter cet inconvénient, nous avons repris nos expériences dans des cuves de Ranvier. C'est le milieu aux grains d'orge qui, pour le moment, semble fournir les meilleurs résultats. Si on place dans une goutte de ce milieu un fragment de cuticule intestinale de *Glomeris* à laquelle sont fixés quelques filaments végétatifs et quelques filaments à arthrocystes, presqu'immédiatement, on peut constater

l'émission des arthrocystes les plus distaux. Cette libération d'arthrocystes se poursuit plusieurs jours, tandis que de nouvelles cloisons apparaissent dans les filaments et que de nouveaux arthrocystes se différencient. Les arthrocystes sont le plus souvent quadrinucléés, mais ils peuvent être aussi de longues portions syncytiales et représenter une mue partielle de l'Eccrinide. Cette reproduction schizogonique est active dans les cultures et les arthrocystes libérés s'allongent d'une façon très sensible (ils peuvent doubler de longueur en 2 ou 3 jours) ; des vacuoles apparaissent dans leur protoplasme.

Dans la plupart de nos cultures, au bout d'une quinzaine de jours, nous avons constaté, dans les arthrocystes ainsi libérés, l'apparition, à un pôle, d'une fissuration qui grandit et finit par diviser longitudinalement tout l'arthrocyste. Celui-ci présente alors deux plages cytoplasmiques latérales qui se contractent légèrement. Au bout d'un mois, les cultures contiennent de nombreuses spores durables biloculaires, montrant chacune deux germes allongés quadrinucléés, tout à fait conformes à celles que Duboscq, Léger et Tuzet (1948) ont vu se former à la fin de la vie végétative de l'*Eccrina*, au moment de la mue du *Glomeris*. Dans notre culture, la longueur des spores est liée à celle de l'arthrocyste qui leur a donné naissance ; nous en avons mesuré ayant 80 µ, 60 µ, 50 µ, 45 µ de long sur 10 à 11 µ de large (la longueur des spores d'*Eccrina flexilis* donnée par Duboscq, Léger et Tuzet est de 60 à 65 µ de long, 11 à 12 µ d'épaisseur). Quelquefois on voit un germe quadrinucléé s'enkyster isolément. Pour le moment, nous n'avons jamais vu, dans nos cultures, se former les spores durables à l'intérieur des filaments ; il semble qu'il y ait d'abord émission d'arthrocystes, puis, secondairement, formation de spores durables.

Dans ces essais préliminaires, surtout préoccupée de conserver et, si possible, de favoriser le développement des *Eccrina*, nous n'avons fait ni les fixations, ni les colorations qui auraient permis une étude cytologique. Cependant, les noyaux étant parfaitement visibles, nous avons pu constater qu'au moment de la formation des spores, les noyaux s'unissent 2 à 2 pour donner de grosses masses nucléaires ; mais il nous a été impossible de suivre les phénomènes sexuels assez complexes décrits par Duboscq, Léger et Tuzet.

Nous avons obtenu ces résultats à la fois en utilisant le milieu aux grains d'orge précédemment signalé, et dans ce même milieu aux grains d'orge dans lequel nous avons ajouté soit 0 gr. 05 de vitamine B12, soit 0 gr. 1 d'autolysat de levure par litre de milieu.

Comme il est très difficile de ne pas introduire de bactéries dans

les cultures, les bactéries étant fréquemment fixées sur l'*Eccrina* elle-même, nous avons tenté d'arrêter leur développement en ajoutant de l'auréomycine aux milieux de culture. Au préalable, nous avions fait prendre de l'auréomycine à des *Glomeris* en mêlant cet antibiotique à des crottes de lapins dont les *Glomeris* sont très friands. Les *Glomeris*, qui étaient sous-alimentés, avaient mangé totalement cette nourriture ; en les sacrifiant de 2 à 8 jours après le traitement, nous avons constaté qu'ils étaient toujours infestés par de nombreux *Eccrina*. Nous en avions conclu que ces organismes résistaient bien à l'auréomycine. Or, l'introduction d'auréomycine dans nos milieux n'a pas eu de résultats heureux et paraît beaucoup plus néfaste aux Trichomycètes que la présence, même massive, de bactéries. Les Eccrinides ont plus ou moins rapidement dégénéré sans émettre d'arthrocystes, ni sporuler.

Les faibles résultats obtenus par cette première série de cultures sont loin de pouvoir jeter un jour nouveau sur le problème de la position systématique des Eccrinides.

Les milieux fournis jusqu'à maintenant aux *Eccrina* du *Glomeris* leur permettent seulement de végéter pendant plusieurs semaines ; mais nous n'avons jamais vu se développer des filaments mycéliens comme cela a été fréquemment le cas, dans les mêmes cultures, pour certains champignons habitant l'intestin du *Glomeris*. En quelques heures, on peut voir, en effet, le thalle de champignons authentiques proliférer au point d'envahir toute la goutte pendante. C'est bien loin d'être le cas des Trichomycètes.

Dans un milieu aux grains d'orge, la reproduction schizogonique par arthrocystes est activement déclenchée, mais, au bout d'un certain temps, les arthrocystes finissent par sporuler. Or, chez les Trichomycètes, la sporulation marque le terme de la vie végétative ; elle se produit seulement dans de mauvaises conditions, quand les Trichomycètes vont être expulsés avec la mue rectale.

Nous avons donc, à peu près uniquement assisté à une réaction de défense de l'*Eccrina* qui ne se trouvait pas dans les conditions favorables à son parfait développement, ou au plus, à un cycle très raccourci dans lequel la multiplication endogène des filaments est supprimée.

Nous poursuivons actuellement ces tentatives de cultures avec les mêmes méthodes et comptons en pratiquer d'autres avec des milieux différents, un autre matériel et à d'autres époques de l'année. Il est à peu près certain que l'état du Trichomycète, au moment de son ensemencement, a une répercussion sur le développement ultérieur de la culture ; pour le moment, seuls, les arthrocystes, éléments

jeunes ou plus exactement, portions rajeunies par une sorte de mue, se sont développés dans nos cultures. Dans les essais à venir et dans la mesure du possible, il sera avantageux de partir de la spore durable ; de sa germination sortirait un élément jeune peut-être plus capable d'adaptation au milieu de culture.

Bibliographie

Duboscq (O.), Léger (L.) et Tuzet (O.). — Contribution à la connaissance des Eccrinides. Les Trichomycètes. *Arch. Zool. Exp.*, t. 86, 1948 (fasc. 2).

Manier (J.-F.). — Recherches sur les Trichomycètes. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, 1950, 11e série.

— Trichomycètes. *Traité de Zoologie*, P.-P. Grassé, Masson édit., 1954 (*sous presse*).

ÉTUDE D'UNE COLLECTION NORVÉGIENNE DE LEVURES

(2e Partie)

Par Edel DIETRICHSON

Préface

Pour publier notre étude de la partie restante de la collection de levures norvégiennes, nous avons attendu la parution de l'ouvrage de Lodder et Kreger-van Rij : *The Yeasts. A taxonomic study*, annoncée en 1949 au Rapport annuel de l'I.F.C.C. Sans cet ouvrage, nous n'aurions pas réussi à donner une étude taxonomique de la collection norvégienne de levures.

C'est pour nous un agréable devoir de remercier chaleureusement notre patron, M. le Dr Einar Aaser, Directeur de l'Institut National de la Santé Publique d'Oslo, qui nous a toujours appuyée dans nos efforts et a porté à notre travail le plus vif intérêt.

Nous prions M. le Professeur Dr A. J. Kluyver de trouver ici l'hommage de notre sincère reconnaissance. Il nous a donné la possibilité de poursuivre nos examens après la parution du travail de Lodder et Kreger-van Rij. Nous avons ainsi pu réaliser notre but, à savoir de continuer la description de la collection norvégienne de levures commencée en 1950.

Nous tenons également à remercier ici Mlle le Dr J. Lodder d'avoir témoigné personnellement tant d'intérêt pour notre collection, en nous aidant de ses conseils, avec toute l'autorité qui s'attache à son nom.

A Mlle W. Slooff, Assistante au Centraalbureau voor Schimmelcultures, Yeast Division, Delft, notre vive gratitude pour les encouragements qu'elle n'a cessé de nous prodiguer, ainsi que pour tout le travail personnel qu'elle a fourni en vue de nous aider dans nos recherches.

Le Centraalbureau voor Schimmelcultures, Yeast Division, nous a rendu le plus grand service en complétant pour nous toute une série d'analyses.

Nos remerciements vont aussi à Mlle A. van den Hoven van Genderen, Assistante au même laboratoire, pour son aide compétente et aimable.

Nous savons le plus grand gré au Professeur P. Hauduroy qui, en tant que Directeur du Centre de I.F.C.C. de Lausanne (Suisse), a pu nous met-

tre en rapport avec M. le Professeur F. Coutelen, de la Faculté de Médecine de Lille, Directeur du Centre de Parasitologie et de Pathologie parasitaire, et avec Mlle le Dr G. Cochet, Chef de Service de Mycologie de cet Etablissement. Par ce fait même, il nous a donné la possibilité de mener à bien notre travail.

Que M. le Professeur Coutelen veuille bien trouver ici nos remerciements pour la bienveillance dont il a fait preuve en nous permettant de confier à son service certains travaux complémentaires.

A Mlle le Dr Cochet, nous renouvelons l'assurance de notre profonde gratitude, car ses initiatives et son aide efficace nous ont été indispensables, tant à Lille qu'à Paris.

Nous remercions M. le Professeur Henri Galliard, de la Faculté de Médecine de Paris, Directeur de l'Institut de Parasitologie, de nous avoir donné la possibilité de finir nos études dans son service et d'avoir généreusement accordé à notre étude une place dans les *Annales de Parasitologie*.

Mlle Simone Dreytus, Assistante à la Section de Mycologie de l'Institut de Parasitologie, s'est constamment tenue à notre disposition pour faciliter notre travail.

Le Conseil de Recherches de Science générale de Norvège (Norges Almenvitenskapelige Forskningsråd) nous a manifesté une grande bienveillance. Nous tenons à lui en dire ici notre vive reconnaissance.

Introduction

Dans cette étude, nous avons isolé 86 souches de levures qui comprennent 35 espèces, dont 9 espèces nouvelles et 7 variétés nouvelles. De plus, nous avons isolé 23 souches de moisissures qui comprennent 2 espèces.

Les levures que nous avons étudiées ont été isolées des matériaux suivants :

1) expectorations ;
2) sang ;
3) épiderme,

et comprennent les catégories de maladies suivantes :

1. origine inconnue ;
2. asthme ;
3. bronchite ;
4. fibrose remarquable des poumons ;
5. infiltration des poumons ;
6. malades suspects de tuberculose pulmonaire ;
7. mycose pulmonaire ;

8. tuberculeux pulmonaires ;
9. exanthème ;
10. onychomycose ;
11. dysurie ;
12. septicémie.

Nous nous référons aux abréviations Ep. G. V. (voir première partie de notre étude : « Etude d'une collection norvégienne de levures isolées d'expectorations de malades atteints d'asthme ou de bronchite » publiée dans les *Annales de Parasitologie*, t. XXV, n°s 1, 2, 3, 1950, p. 5-6).

Toutes les souches marquées Ep. ont été isolées à 30°C., deux souches n° Ep. 292 b, Ep. 310 b et souche G. ont été isolées à 37°C. Les souches V ont également été isolées à 37°C., sauf quelques exceptions.

Toutes les espèces de levures ont été déterminées d'après Lodder et Kreger-van Rij. Deux espèces : *Trichosporon capitatum* et *Trichosporon cutaneum* ont été examinées, d'après l'Ecole hollandaise et d'après l'Ecole française, comme suit :

Trichosporon capitatum : une souche d'après l'Ecole hollandaise et huit souches d'après l'Ecole française.

Trichosporon cutaneum : deux souches d'après l'Ecole hollandaise et cinq souches d'après l'Ecole française.

Les deux espèces suivantes ont été déterminées respectivement par le Centraalbureau voor Schimmelcultures de Delft et de Baarn :

Trichosporon capitatum (n° V. 695).

Sporotrichum carougeaui Langeron (n° Ep. 858 b).

Dans tous nos travaux d'après Lodder et Kreger-van Rij, nous avons également employé la méthode française pour la morphologie macro- et microscopique.

Comme milieu de culture sur lame d'après l'Ecole hollandaise, la pomme de terre gélosée a été employée, en général. Comme milieu de culture sur lame d'après l'Ecole française, nous avons employé la pomme de terre-carotte (P.C.) gélosée (Langeron M. et Guerra P., 1938).

Pour onze espèces, nous avons recherché la température optimum en employant les températures suivantes en degrés Celsius : température de cave, 20, 25, 30, 37.

Pour des raisons pratiques, nous avons fait un choix des levures. La description est donnée en deux parties de la manière suivante :

1. Nous donnons une liste complète de toutes les souches isolées, avec des notes.

2. Pour les nouvelles espèces et pour les nouvelles variétés, nous donnons une description spéciale et détaillée.

Méthodes

Tandis que les précédentes monographies de levures des Ecoles hollandaise et française ont traité certains groupes de la taxonomie de levures, J. Lodder et N. J. W. Kreger-van Rij, dans leur travail fondamental : *The Yeasts. A taxonomic study* (Amsterdam, 1952), mettent en relief le système botanique complet des espèces de levures.

En ce qui concerne les principes de taxonomie de cet ouvrage, nous citons les auteurs, voir page 3 : « Our main principle is to give first rank to morphological characteristics in so far as these are mainly used for the primary divisions. In the species differenciation, however, physiological properties have been widely made use of. In addition we have given preference to those morphological and physiological properties which can be studied with simples methods. A further principle was not to pay too much attention to minor differences. It seems more desirable to leave open the possibility for a certain fluctuation within the taxon. »

La collection norvégienne de levures est représentée par les familles :

1) *Endomycetaceæ* (avec les genres *Hansenula*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces*).

2) *Cryptococcaceæ* (avec les genres *Candida*, *Torulopsis*), ainsi que par sa sous-famille *Trichosporoideæ* (avec un genre unique, *Trichosporon*).

Tous les genres nommés, *Torulopsis* excepté, peuvent être exclusivement déterminés d'après des caractères morphologiques.

Le genre *Torulopsis* est caractérisé au point de vue morphologie, et aussi biologiquement par : « No "starch" formation, capsule only exceptionnally formed. Dissimilation oxidative or besides oxidative also fermentative. » (Voir Lodder et Kreger-van Rij, p. 370).

Technique générale d'isolement, de purification et de conservation des souches

Quant à l'origine des souches, nous nous référons à la première partie de notre étude.

I. — Isolement et purification.

Isolement et purification ont été effectués d'après les méthodes décrites dans la publication ci-dessus nommée sur les souches de levures norvégiennes.

D'après Lodder et Kreger-van Rij, les expériences ont montré que l'ensemencement superficiel, sur plaque d'une suspension dans l'eau d'une colonie isolée donnera en général une culture pure. Toutes les colonies doivent avoir un aspect macroscopique uniforme. Le milieu suivant est employé : moût de bière, non houblonné (10°Bllg.) gélosé à 2 p. 100.

II. — Conservation des souches isolées et purifiées.

Nous avons parlé de la conservation des souches norvégiennes dans la publication, déjà nommée, dans les *Annales de Parasitologie*, voir p. 7-8.

Les capuchons en caoutchouc se sont montrés préférables aux bouchons en caoutchouc comme moyen de fermeture pour les tubes de saccharose. Au cas où une levure fait fermenter fortement le saccharose, aussi bien le bouchon que le coton seront rejetés, mais si le tube est fermé avec du coton et un capuchon en caoutchouc, le coton restera dans le tube, même si le capuchon est rejeté. La culture est intacte et on remet un nouveau capuchon.

Par la suite, nous allons mentionner les méthodes qui, d'après Lodder et Kreger-van Rij, ont été employées pour la classification des groupes botaniques nommés, ainsi que pour la différenciation des espèces.

Les méthodes morphologiques

I. — Examen direct des cultures.

L'étude morphologique d'une levure commence, en premier lieu, par un ensemencement sur milieu de moût de bière liquide et solide.

Milieu liquide. — On verse 30 cc. de moût de bière (15°Bllg.) sans houblon dans des flacons d'Erlenmeyer de 100 cc.

Milieu solide. — Le moût de bière (10°Bllg.) sans houblon et gélosé à 2 p. 100 est réparti dans des tubes inclinés.

Les deux milieux sont ensemencés avec une culture récente sur moût de bière gélosé et mis à l'étuve trois jours à 25°C. ; après ce temps, on examine au microscope la forme et la taille des cellules ainsi que leur mode de bourgeonnement. La dimension d'une levure est indiquée après mensuration de 20 cellules bien développées ; les valeurs extrêmes de la longueur et de la largeur des cellules sont indiquées.

La culture sur moût de bière liquide est également examinée au point de vue de la présence du dépôt, du voile et de l'anneau. L'examen est refait après un mois à 17°C.

En ce qui concerne la formation d'un voile retardé, nous citons Lodder et Kreger-van Rij, voir p. 20 : « To the delayed pellicle formation no taxonomic value has been attached. »

II. — Examen des cultures sur lames.

Les cultures sur lame d'après Rivalier et Seydel (1932 *a* et *b*) sont, en second lieu, une épreuve indispensable pour faire la différenciation du genre et de l'espèce. Tous les détails végétatifs du développement d'une levure doivent être étudiés par l'examen attentif des cultures sur lame.

Un champignon levuriforme, par exemple, peut ainsi être étudié dans toutes les phases de son développement caractérisé par :

1) un pseudomycélium avec un « appareil sporifère », Langeron et Talice (1932), ou :

2) un pseudomycélium et mycélium vrai bourgeonnant par blastospores, ou bien :

3) une combinaison des deux modes de filamentisation en bourgeonnant, et par des blastospores et par des arthrospores.

On fait un ensemencement sur gélose de pomme de terre ou sur gélose de maïs. Nous avons essentiellement ensemencé sur gélose de pomme de terre. Dans les cas où la gélose de maïs a été employée, la filamentisation a été obtenue également sur gélose de pomme de terre. Une seule exception à mentionner concerne l'espèce de *Candida* Ep. 836 b.

Cette souche a développé trois formes différentes de pseudomycélium sur gélose de maïs (fig. 22) tandis que l'ensemencement sur gélose de pomme de terre n'a donné que des ébauches.

Si les levures ne filamentent pas sur ces deux milieux, on conclut qu'aucun autre milieu ne pourra faire produire une filamentisation.

Il faut, d'autre part, faire un essai de cultures en atmosphère carbonique.

Cultures sur lames selon Wickerham et Duprat.

Lodder et Kreger-van Rij appliquent la méthode de Rivalier et Seydel avec la modification de Wickerham et Duprat (1945), en couvrant la culture partiellement par lamelles pour donner ainsi à la levure des conditions anaérobiques qui, dans des cas spéciaux, favorisent la filamentisation. D'après Wickerham (1951), c'est Dalmau qui, le premier, employa la méthode des lamelles.

Méthode. — On emploie des boîtes de Pétri stériles dans lesquelles est placé un bâtonnet en verre courbé servant d'appui à deux lames portant

quatre lamelles. En déplaçant les lamelles, on verse la gélose bien chaude sur les lames. Une fois refroidie, la gélose est ensemencée avec une culture jeune sur moût de bière gélosé ; on fait deux ou trois stries sur chaque lame, qui sont ensuite couvertes de deux lamelles mises à distance l'une de l'autre. On verse un peu d'eau stérile au fond de la boîte, qu'on met à l'étuve à 25°C. Après quatre ou cinq jours, on regarde au microscope les stries ensemencées ; puis les cultures sont remises dans la boîte, qui est alors placée à la température de la chambre et revue une semaine après l'ensemencement.

Formation des ascospores

Les souches ayant formé des ascospores — au nombre de 13 — sont très vieilles. Elles ont été conservées sur 10 p. 100 saccharose pendant plusieurs années. Les spores ont pour la première fois été vues il y a dix à vingt ans. Les milieux ayant donné un résultat positif étaient les suivants : blocs de plâtre, milieu de Gorodkowa, cônes de pomme de terre. La recherche des ascospores a été renouvelée en 1953 et les souches ensemencées sur des milieux différents spéciaux pour la sporulation tels que : blocs de ciment, milieu de Gorodkowa, V8, milieu de Starkey (1946), milieu d'acétate, d'après Adams (1949), carotte et eau distillée ; cinq souches n'ont pas formé d'ascospores.

Il est recommandable d'activer les cultures avant l'ensemencement sur les milieux spéciaux pour la sporulation, en faisant des ensemencements de souches récentes trois fois de suite sur moût de bière, non houblonné (15°Bllg.).

On est de plus en plus attiré vers la recherche d'une séparation nette entre la forme parfaite et la forme imparfaite d'une espèce et vers la description complète des deux formes.

Caractères morphologiques des cultures macroscopiques

Ces examens se réfèrent à des cultures en stries sur moût de bière gélosé, milieu dont la composition est donnée plus haut. Les cultures en stries sont examinées au point de vue macroscopique après un mois à la température de la chambre (17 à 18°C.).

Les méthodes physiologiques

La formation de voile, qui révèle un caractère morphologique, est aussi un caractère biologique, le voile indiquant, dans ce cas, l'exigence des cellules en oxygène.

Fermentation

Pour la fermentation, nous nous sommes servis de tubes de Durham. Ceux-ci sont considérés par Lodder et Kreger-van Rij comme étant plus sensibles que les flacons d'Einhorn. Ces derniers sont employés par ces auteurs pour la « Standard description ». Ces conditions expliquent certaines discordances que nous prétendons avoir pu démontrer chez deux souches de *Candida mycoderma* (V 342*a*, V 474). Ces souches ont donné une fermentation faible, contrairement à ce qui se passe chez *Candida krusei*. Les expériences en tubes de Durham ont donné des résultats plus décisifs que ceux décrits dans « Standard description » pour *Candida mycoderma*.

Nous donnons la définition de la fermentation du raffinose 1/3 et 2/3 d'après Kreger-van Rij, voir p. 22 : « Fermentation of raffinose for 1/3 only means the fermentation of the fructose part of the molecule, the melibiose part being not attacked. If a yeast also contains melibiose in addition usually both the glucose and the galactose part are fermented. In some rare cases the galactose part remains unfermented ; we have indicated this as fermentation of raffinose for 2/3. »

Pour démontrer la fermentation du raffinose 1/3 ou complet, nous avons appliqué la méthode de Wickerham (1943) en tubes de Durham, mais en employant une solution de raffinose à 2 p. 100, au lieu de 4 p. 100 comme il le fait lui-même.

Pour prouver la fermentation du raffinose aux 2/3, nous avons employé une solution de mélibiose. Celle-ci est préparée avec une solution de raffinose à 3 p. 100, à laquelle on ajoute une souche récente de *Saccharomyces cerevisiæ*. Après une semaine à 25°, le liquide fut clarifié par filtrage sur papier-filtre et stérilisé quinze minutes à 110°C. Comme contrôle, on ensemence un tube avec *Saccharomyces cerevisiæ* et un autre avec *Saccharomyces carlsbergensis*.

Méthode. — Les sucres suivants commerciaux ont été employés pour les épreuves de fermentation : glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose, raffinose. L'inuline a été employé d'après la méthode de Langeron et Guerra (1938). Les sucres s'emploient en solution à 2 p. 100. L'essai est fait en tubes de Durham mis à l'étuve pendant dix jours à 25°C., la lecture étant faite tous les deux jours. Quand la fermentation du raffinose est positive, il s'agit de décider si ce sucre fermente au 1/3, 2/3 ou complètement.

La fermentation et l'assimilation des sucres jouent un grand rôle dans la différenciation des espèces. Mais chez les espèces donnant une faible, ou même aucune fermentation, l'assimilation de sucre peut avoir une grande valeur taxonomique. Ainsi, deux espèces azymatiques nouvelles sont bien caractérisées par l'assimilation de glucose, galactose, saccharose, maltose : V 15 *Candida oaseri* et Ep. 68 *Hansenula amylofaciens*.

La méthode auxanographique d'assimilation des sucres comprend les cinq sucres suivants : glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose. La

lecture du résultat se fait après un ou deux jours à 25°C. La méthode donne souvent des résultats peu nets chez les levures à croissance lente et nécessitant beaucoup de temps pour s'adapter ; fait qui se remarque surtout quand il s'agit du galactose.

Pour l'assimilation des sucres, Wickerham et Burton (1948) emploient une méthode sur milieu liquide, qui donne à la levure de meilleures conditions d'assimilation et qui, appliquée pour le galactose, donne un résultat plus sûr et plus facile à interpréter. Lodder et Kreger-van Rij ont employé la méthode de Wickerham et Burton pour tous les essais d'assimilation des sucres.

Cette méthode a été employée par nous uniquement pour le galactose et dans un nombre restreint d'épreuves. Pour un cas de *Saccharomyces cerevisiæ* — Ep. 4.329 — l'assimilation du galactose n'a pas donné le résultat positif souhaité, même après adjonction d'eau de levure.

Nous citons ci-dessous les méthodes auxanographiques de l'assimilation des sucres appliquées par Lodder et Kreger-van Rij. On emploie un milieu synthétique de base ne contenant aucune source de carbone. Ce milieu est fondu, refroidi à ± 40°C. et versé en boîtes de Pétri, dans lesquelles on vient de mettre ± 2 cc. d'une concentration forte de levure et une goutte d'eau de levure ou une solution de vitamines. Les liquides sont soigneusement mélangés. Après solidification, la boîte reste quelques heures à 25°C. sens dessus-dessous, pour obtenir une surface sèche de gélose. De petites quantités des sucres à essayer, c'est-à-dire glucose, galactose, saccharose, maltose et lactose, sont déposées à différents endroits de la gélose. La boîte de Pétri est alors mise en position normale dans l'étuve à 25°C. Les résultats doivent être observés après un ou deux jours.

Nous donnons ci-dessous l'épreuve en milieu liquide d'après Wickerham et Burton (1948). Voir Lodder et Kreger-van Rij p. 24 et 25.

Méthode. — Des tubes remplis de 5 cc. d'un milieu minéral synthétique contenant chacun un des cinq sucres à étudier (glucose, galactose, saccharose, maltose, lactose) sont ensemencés avec une goutte d'une suspension de levure. Un tube, contenant le milieu sans sucre et ensemencé comme décrit ci-dessus, sert de témoin. Les tubes sont mis à 25°C. et examinés après une, deux ou trois semaines. S'il y a une différence de croissance indéniable entre un tube et le témoin, le résultat est estimé positif.

Méthode auxanographique de l'assimilation de l'azote

Lodder (1934) et Diddens et Lodder (1942) ont systématiquement pratiqué cette méthode pour les substances azotées suivantes : nitrate de potassium, sulfate d'ammonium, asparagine, urée et peptone. Les deux derniers auteurs le font néanmoins avec réserve, disant ceci (p. 74 et 75) : « Mais on a constaté que seule l'assimilation de nitrate a de l'importance comme moyen de différenciation car, dans la plupart des cas,

on obtient de la croissance avec sulfate d'ammonium, asparagine et peptone. »

Lodder et Kreger-van Rij (1952) éliminent catégoriquement l'emploi de toutes les substances azotées, nitrate de potassium excepté. La peptone sert de témoin. Dans les cas exceptionnels où l'assimilation de nitrate de potassium ne donne pas de résultat net d'après la méthode auxanographique, Lodder et Kreger-van Rij appliquent la méthode de Wickerham et Burton de 1948 sur milieu liquide.

La preuve de l'assimilation du nitrate de potassium a surtout une valeur taxonomique pour la différenciation spécifique, mais peut aussi avoir de l'importance pour la différenciation des genres.

Méthode. — La technique est celle désignée pour l'assimilation des sucres. La substance ne contient aucune source d'azote et le glucose sert de source de carbone.

Nous donnons ci-dessous l'épreuve en milieu liquide d'après Wickerham et Burton (1948). Voir Lodder et Kreger-van Rij, p. 26.

Méthode. — Cette épreuve est employée dans des cas rares. C'est également le glucose qui sert ici comme source de carbone. La croissance en ce milieu avec le nitrate de potassium est comparée avec celle du sulfate d'ammonium comme source d'azote.

Alcool, seule source de carbone

La croissance et la respiration des cellules ont été mesurées également par l'assimilation de l'alcool. Les essais se font en tubes et en tubes-témoins. Voir Diddens et Lodder (1942), p. 75. Les tubes contenant 5 cc. du milieu sont ensemencés avec une goutte de levure en suspension dans l'eau, puis étuvés à 25°C. La lecture se fait en général après une semaine, mais les cultures peuvent exceptionnellement rester à l'étuve jusqu'à trois semaines.

Dédoublement d'arbutine

Lodder et Kreger-van Rij font remarquer (voir p. 27) que le genre *Hansenula* est arbutine positive, mais les genres *Hanseniaspora* et *Kloeckera* sont arbutine négative ; tandis que, dans d'autres genres, certaines espèces font dédoubler l'arbutine et d'autres ne le font pas.

Méthode. — Nous indiquons ci-après la méthode d'après Lodder et Kreger-van Rij, voir p. 28. Un milieu contenant 0,5 p. 100 d'arbutine en eau de levure gélosée est fondu et versé dans une boîte de Pétri, dans laquelle on a mis auparavant une goutte d'une solution de $FeCl_3$. Les liquides sont bien mélangés. Une fois refroidie, la gélose est ensemencée et mise à l'étuve à 25°C. Un résultat positif, c'est-à-dire une zone brune foncée autour des colonies peut être observée après deux, quatre ou six jours.

Le dédoublement de l'arbutine joue un rôle moins important pour la taxonomie.

Production de substances analogues à l'amidon

Lodder et Kreger-van Rij commencent le chapitre comme suit : « Bien que la portée de la production de substances analogues à l'amidon au point de vue taxonomie ne puisse encore être complètement évaluée, nous l'avons employé comme une des caractéristiques définissant le genre *Cryptococcus*. »

La seule souche examinée par nous quant à la présence de substances analogues à l'amidon est celle d'*Hansenula amylofaciens*, qui est amidon positif.

Méthode. — Nous l'indiquons d'après Lodder et Kreger-van Rij (voir p. 31).

Un milieu synthétique a été employé. On ajoute une goutte d'eau de levure ou un mélange de vitamines à chaque boîte. Celle-ci est ensemencée et mise à l'étuve à 25°C. Après une à deux semaines, la présence des substances analogues à l'amidon peut être démontrée en ajoutant du lugol à la surface de la gélose.

La peptonisation et la formation d'acide dans le lait sont pratiquées en deux phases

La peptonisation du lait a été examinée en plaques et la recherche d'acide s'effectue dans le lait tournesolé.

a) *Peptonisation du lait en plaques : d'après Smith et al.* (1946)

Méthode. — On prépare une gélose à 2 p. 100 et on y ajoute du lait maigre en proportion de 20 p. 100. On verse le mélange dans une boîte de Pétri en couche assez mince pour que le résultat soit obtenu plus rapidement. Une fois refroidie, la gélose est ensemencée avec les souches à étudier. *Candida pseudotropicalis* var. *lactosa* a été employé comme témoin. Les boîtes sont mises à 25°C. On fait la lecture tous les deux jours en l'espace de dix jours.

b) *Formation d'acide dans le lait*

Le lait tournesolé est ensemencé avec la souche à étudier, et la lecture a été faite après six et dix jours.

Liste complète de toutes les souches isolées :

1. Les levures

Saccharomyces cerevisiæ Hansen :

N°s	
V 212, V 369 b	Isolées respectivement en 1935, 1940 d'expectorations d'origine indéterminée.
V 293, V 365, V 441, V 450, V 451 b	Isolées respectivement en 1937 et 1940 (4 derniers numéros) d'expectorations d'asthme.
Ep. 4.329	Isolée en 1934 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Cette souche est conforme à la souche-type sauf pour l'assimilation du galactose. L'épreuve de l'assimilation du galactose a été effectuée d'après la méthode de Wickerham. Comme cette analyse a donné un résultat négatif au mépris de la théorie, nous avons refait nos examens en ajoutant une goutte d'eau de levure sans avoir pu démontrer un résultat positif.

N°s	
Ep. 4.277, Ep. 272 b, Ep. 828 a, Ep. 909 b	Isolées respectivement en 1934 et 1935 (3 derniers numéros), en provenance d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.

Saccharomyces chevalieri var. atypica nov. var. (n° V 435). Isolée en 1940 d'expectorations d'asthme. *Voir description.*

Saccharomyces fragilis Jörgensen :

N°s	
Ep. 821 c	Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.
V 9, V 369 a, V 461 b	Isolées respectivement en 1932, 1940, 1940 d'expectorations d'origine inconnue.
V 32, V 43	Isolées en 1933 d'expectorations de bronchite.
V 59 a, V 247 b	Isolées respectivement en 1933, 1935 d'expectorations d'asthme.
V 167	Isolée en 1934 d'onychomycose.

Note. — Toutes les souches de *Saccharomyces fragilis* sont positives pour l'arbutine sauf n° V 32, qui a donné une réaction négative. Cf. Lodder et Kreger-van Rij, p. 183.

Saccharomyces marxianus Hansen (n° V 239). Isolée en 1935 d'expectorations d'asthme. Conforme à la souche type.

Saccharomyces rouxii Boutroux *var. polymorphus* (n° Ep. 503 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire, révèle les caractères de la souche type.

Saccharomyces scandinavicus nov. spec. (n° Ep. 482 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. 25-30° C. *Voir description.*

Saccharomyces verticillatus nov. spec. (n° V 366). Isolée en 1940 d'expectorations de bronchite. Temp. opt. ± 37° C. *Voir description.*

Saccharomyces veronæ var. osloensis nov. var. (n° V 253). Isolée en 1936 d'expectorations d'asthme « de boulanger ». *Voir description.*

Saccharomyces vossii nov. spec. (n° V 536). Isolée en 1943 d'exanthème. Temp. opt. 25-37° C. *Voir description.*

Pichia dubia nov. spec. (n° V 64). Isolée en 1933 d'expectorations de bronchite. Temp. opt. 25-30° C. Pas de croissance à 37° C. *Voir description.*

Pichia farinosa (Lindner) Hansen (n° Ep. 689 b). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Réserve faite d'une divergence de type de pseudomycélium, cette souche est en bonne conformité avec la souche-type.

Hansenula anomala (Hansen) H. et P. Sydow :

N° Ep. 843 a. Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

N° V 323. Isolée en 1938 d'exanthème.

Note. — N° Ep. 843 a est en plein accord avec la souche-type. N° V 323 montre tous les caractères de la souche-type, seulement la fermentation du maltose est plus forte chez cette souche que chez Ep. 843 a.

Hansenula amylofaciens nov. spec. (n° Ep. 68). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. 20-25° C. Pas de croissance à 37° C. *Voir description.*

Hansenula subpelliculosa Bedford (n° V 510 b). Isolée en 1941 d'onychomycose.

Note. — Une différence de temps et de température en extrait de malt explique peut-être la divergence de dimension des cellules.

Opposé à la description de la croissance en éthanol de la souche-type, le n° *V 510 b* a donné un voile en ce milieu.

Debaryomyces kloeckeri Guill. et Péju. (n° Ep. 952). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Cette souche est en conformité avec la description de *Debaryomyces kloeckeri*. La forme des cellules est assurément plus variée que pour la souche-type, mais les auteurs font compter avec plusieurs transitions dans la forme ronde ovale.

La souche norvégienne a donné un voile annulaire après un mois à 17°C : un voile retardé peut aussi paraître chez cette espèce.

Torulopsis glabrata (Anderson) Lodder et de Vries (n° Ep. 292 b). Isolée en 1937 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Les résultats des examens montrent bien les caractères de la souche-type sauf pour l'assimilation du galactose, qui est faiblement positive. On a remarqué qu'il y a des souches de cette espèce qui font assimiler le galactose. (Communication de la *Division des Levures à Delft*).

La même observation est valable pour les numéros suivants :

N°s	
Ep. 821 d Ep. 996 b	Isolées en 1935 d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.
G 5.391 b	Isolée en 1933 d'expectorations de tuberculose pulmonaire.
V 213 V 230 b V 311 b	Isolées respectivement en 1935, 1935, 1938 d'expectorations d'asthme.

Il faut remarquer que toutes les dix souches de *Torulopsis glabrata* étudiées par Lodder et Kreger-van Rij sont d'origine humaine.

Torulopsis inconspicua Lodder et Kreger-van Rij :

N°s	
Ep. 752 b Ep. 894 a	Isolées en 1935 d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.

Note. — Les deux numéros mentionnés plus haut sont bien caractérisés comme la souche-type ; mais ils se distinguent entre eux par leurs températures optimum : n° Ep. 752 b $\pm$ 30°C. et n° Ep. 894 a $\pm$ 37°C.

Torulopsis inconspicua var. filiforme nov. var. (n° Ep. 468 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. ± 25° C. *Voir description.*

Torulopsis osloensis nov. spec. (n° Ep. 934 b). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. 20-25° C. *Voir description.*

Torulopsis sphærica (Hammer et Cordes) Lodder :

N° Ep. 542 a. Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

N° V 547 a. Isolée en 1944 d'expectorations de fibrose remarquable des poumons.

Note. — Pour les deux numéros mentionnés plus haut, on distingue un voile retardé ou précoce, respectivement chez ces deux souches et la souche-type. On fait remarquer un voile variable chez leur forme sporulante *Saccharomyces lactis* Dombrowski.

Candida aaseri nov. spec. (n° V 15). Isolée en 1931 d'expectorations d'asthme. Temp. opt. ± 30° C. *Voir description.*

Candida guilliermondi (Cast.) Lang. et Guerra. (n° Ep. 881 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — Pellicule annulaire très fine mate en extrait de malt après trois jours à 25°C.

Candida krusei (Cast.) Berkhout :

N°s

Ep. 491 b, Ep. 701 b — Isolées en 1935 d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.

V 399 — Isolée en 1940 d'expectorations d'asthme.

Note. — Les trois numéros mentionnés sont en bon accord avec la souche-type.

Candida langeroni nov. spec. (n° Ep. 836 b). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. ± 37° C. *Voir description.*

Candida melibiosi Lodder et Kreger-van Rij (n° V 895). Isolée en 1952 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Candida mycoderma (Reess) Lodder et Kreger-van Rij :

N°s	
Ep. 734 b	Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.
V 342 a V 474	Isolées respectivement en 1939, 1940 d'expectorations d'asthme.

Note. — Les trois numéros mentionnés ci-dessus sont d'accord avec la souche-type.

Candida mycoderma var. annulata nov. var. (n° V 310 b). Isolée en 1938 d'expectorations d'asthme. *Voir description.*

Candida parapsilosis (Ashf.) Lang. et Talice :

N°s	
Ep. 371 a Ep. 542 c Ep. 969 a	Isolées en 1935 d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.
V 476	Isolée en 1940 d'expectorations d'asthme.
V 621 b	Isolée en 1949 d'expectorations de poumons infiltrés.

Note. — Tous les numéros nommés ci-dessus sont positifs pour l'arbutine, sauf le n° V 476, qui est négatif.

On fait remarquer que plusieurs souches de *Candida parapsilosis* (Ashf.) Lang. et Talice sont positives pour l'arbutine et qui ne sont pas *var. intermedia.* (Communication de la *Division de Levures à Delft*).

Candida parapsilosis var. obtusa nov. var. (n° Ep. 887 a). Isolée en 1935 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. Temp. opt. 25-37° C. *Voir description.*

Candida rugosa (Anderson) Diddens et Lodder :

N° V 44 a. Isolée en 1933 d'expectorations de bronchite.

N° V 808. Isolée en 1951 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.

Note. — N° *V 44 a* est une des souches qui ne donne pas un voile précoce.

N° V 808 est en conformité avec la souche-type.

Candida rugosa var. elegans nov. var. (n° V 823). Isolée en 1951 d'expectorations de poumons infiltrés. *Voir description.*

Candida trigonopsoides nov. spec. (n° V 352 a). Isolée en 1939 d'expectorations d'asthme. Temp. opt. 30-37° C. *Voir description.*

Candida zeylanoides var. norvegensis nov. var. (n° Ep. 317 c). Isolée en 1938 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire. *Voir description.*

Trichosporon capitatum Diddens et Lodder :

N°s	
V 39 b	Isolée en 1933 d'expectorations de malade suspect de tuberculose pulmonaire.
V 195, V 277 a, V 893	Isolées respectivement en 1934, 1937, 1952 d'expectorations de bronchite.

Note. — N° V 893 : bronchite récidivant pendant une vingtaine d'années.

N°s	
V 281 b, V 417 a	Isolées respectivement en 1937, 1940 d'expectorations d'asthme.
V 695, V 786	Isolées respectivement en 1950, 1951 d'expectorations de poumons infiltrés.

Note. — *N° V 695, déterminée par la Division de Levures à Delft.*

N°	
V 822 a	Isolée en 1951 d'expectorations de mycose pulmonaire.

Trichosporon cutaneum (de Beurm., Gougerot et Vaucher) Ota :

N°s	
V 601, V 684, V 698	Isolées respectivement en 1949, 1950, 1950 d'épiderme d'exanthème.
V 630	Isolée en 1949. Sang. Exanthème.
V 602	Isolée en 1949. Sang de dysurie.
V 610	Isolée en 1949. Sang de septicémie.

Note. — La souche est positive pour l'arbutine. C'est normal. Sauf une réaction divergente de formation de voile montant en éthanol, V 610 est d'accord avec la souche-type.

N°	
V 897 b	Isolée en 1952 d'expectorations d'asthme.

Note. — La réaction de l'arbutine est positive. C'est normal. Il y a bonne concordance avec l'espèce-type, sauf un voile montant en éthanol.

Pour les espèces déterminées d'après Lodder et Kreger-van Rij, nous nous référons à la bibliographie présentée dans leur ouvrage : *The Yeasts. A taxonomic study.*

2. Les moisissures

Sporotrichum carougeaui Langeron :

N°s
Ep. 4.097 b, isolée en 1934.
Ep. 628, isolée en 1935.
Ep. 637, isolée en 1949.
Ep. 858 b, isolée en 1952.

Les souches nommées sont isolées d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire.

Note. — La souche *Ep. 858 b* a été déterminée au *Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn.*

Pour *Sporotrichum carougeaui* Langeron, nous nous référons à :

Langeron M. : Un nouveau *Sporotrichum* malgache : *Sporotrichum carougeaui* Langeron, 1913, et remarques sur les Sporotrichés (Extrait du *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, tome XV. Séance du 14 juin 1922. N° 6, Paris, p. 453),

et à :

Fontoynont et Carougeau (*Bull. Soc. Path. Exot.*, t. XV, 1922, p. 444).

Geotrichum candidum Link :

Les numéros suivants sont isolés d'expectorations de malades suspects de tuberculose pulmonaire :

Ep. : 4.069, 4.082, 4.139, 4.157, 4.174 b, 4.205, isolés en 1934.
Ep. : 148 b, 203, 206 c, 211 c, 430 c, 431 a, 510 b, isolés en 1935.
N°s : V 199, V 209, V 210, isolés en 1934 d'expectorations d'origine inconnue.
N° V 330 b, isolé en 1938 d'expectorations d'asthme.
N° V 493 b, isolé en 1940 d'expectorations de bronchite.

(*à suivre*).

REMARQUES SUR LA TECHNIQUE ET LA VALEUR DE LA COLORATION DE HOTCHKISS MAC MANUS EN MYCOLOGIE MÉDICALE

Par C.-W. BOTTGER (*)

Introduction

La mise en évidence des champignons dans les tissus par les méthodes usuelles de coloration est généralement difficile. Depuis quelques années, divers auteurs ont signalé les résultats favorables obtenus par la technique de Hotchkiss-Mac Manus (H-McM), ou la technique inversée dite « Reverse technic ». Ces deux techniques seraient même supérieures pour l'examen des squames et des ongles à la méthode classique d'éclaircissement par la potasse caustique.

Le principe de la technique de H-McM repose essentiellement sur une hydrolyse par l'acide périodique, suivie d'une coloration par le réactif de Schiff. R. D. Hotchkiss (7) a montré que cette coloration est spécifique pour les hydrates de carbone renfermant un ou deux groupes glycol non substitués ou pour des corps de structure similaire dans lesquels les groupes OH sont remplacés par des groupes aminés ou alkyl-aminés. L'hydrolyse produite par l'acide périodique transforme ces groupes en 1-2 aldéhydes qui, en présence de réactif de Schiff, prennent une couleur allant du rose au rouge foncé. Dans les tissus, il n'y a pratiquement que les polysaccharides — entre autres, le glycogène, la mucine et l'acide hyaluronique — qui se colorent par cette réaction. Dans la membrane cellulaire des champignons, les polysaccharides existent sous forme de chitine et de cellulose ; la chitine réagit violemment en présence de réactif de Schiff. Celui-ci n'est autre chose que de la fuchsine basique déco-

(*) Médecin-assistant du Service dermatologique du Dr M. K. Polano de l'hôpital municipal, La Haye (Hollande). Nous remercions le Dr Vanbreuseghem qui nous a donné l'idée de ce travail et nous a guidé dans son exécution. Nos remerciements vont également à M. Van Santen, chimiste du laboratoire de la clinique Léopold II, pour son aide et ses conseils durant la préparation des divers réactifs.

lorée par l'acide sulfureux ; en présence d'aldéhyde, la coloration rouge de la fuchsine réapparaît. On peut en faire la démonstration pratique en ajoutant une goutte de formol du commerce au réactif de Schiff qui aussitôt d'incolore devient rouge vineux.

La technique de Hotchkiss Mac Manus

Nous nous sommes proposé, après d'autres, de vérifier la valeur de ces deux techniques pour la mycologie médicale. La technique de Hotchkiss-Mac Manus a été appliquée de la façon suivante à la coloration des squames, des fragments d'ongles, des cheveux et des frottis :

1. Fixation avec de l'alcool éthylique à 70° durant 2 minutes.
2. Rinçage à l'eau distillée.
3. Immersion durant 5 minutes dans l'acide periodique à 1 %.
4. Lavage à l'eau courante durant 15 minutes.
5. Immersion dans le réactif de Schiff durant 10 à 15 minutes.
6. Sans laver, immerger deux fois de suite, durant 5 minutes chaque fois, dans de l'eau sulfureuse dont voici la formule :

Bisulfite de soude 10 %	5 ml.
Acide chlorhydrique N	5 ml.
Eau distillée	90 ml.

7. Rinçage à l'eau courante durant 10 minutes.

Le réactif de Schiff est une solution aqueuse à 0,5 p. 100 de fuchsine basique. Il doit être incolore ou jaune paille. La clarification peut s'obtenir en le traitant par du noir animal ou par de l'acide chlorhydrique et du bisulfite de soude.

Les squames et les cheveux sont d'abord fixés au porte-objet par une solution diluée d'albumine de Mayer ou par de l'agar-agar liquéfié.

Les coupes histologiques sont déparaffinées avec du xylol durant deux fois 5 minutes, puis traitées par de l'alcool absolu, de l'alcool à 95°, de l'alcool à 60° et enfin de l'eau distillée.

La méthode des auteurs précités est approximativement celle que nous venons d'exposer. J. Gadrat et coll. (3) ont employé l'acide periodique à 0,5 p. 100 durant 10 minutes. A. M. Kligman et coll. (1, 2) emploient du bisulfite de potasse et terminent la coloration par un colorant de contraste (vert lumière).

Le gros inconvénient de cette méthode est l'instabilité du réactif de Schiff. A l'air libre, il rougit rapidement. En flacons hermétiques, cette altération se fait en quelques semaines. D'où la nécessité de le préparer fréquemment, ce qui prend assez bien de temps.

La reverse technic

P. Arzac (8) démontra qu'on pouvait arriver au même résultat avec de la fuchsine non décolorée qui, comme on sait, est stable. Les préparations sont ensuite traitées par une solution de bisulfite de soude et d'acide tartrique qui décolore les tissus, mais laisse les champignons colorés en rouge. Cette technique, dite « reverse technic », a été employée par Kligman (4, 5) et par Loffgren et Batt's (6).

Voici le détail de la « reverse technic » telle que nous l'avons appliquée :

A. *Coloration des squames et des cheveux* (après fixation par de l'albumine de Mayer diluée) de frottis et de cultures sur lames.

1. Immersion dans l'alcool à 95° durant 1 minute.
2. Immersion dans l'acide periodique à 5 % durant 5 minutes.
3. Lavage dans l'eau durant 2 minutes.
4. Couvrir la préparation avec le colorant suivant :

Fuchsine basique	0 gr. 1
Alcool à 95°	5 ml.

Après dissolution de la fuchsine dans l'alcool, ajouter 95 ml. d'eau distillée.

5. Rinçage à l'eau courante durant 2 minutes.
6. Immersion dans la solution suivante :

Bisulfite de soude	1 gr.
Acide tartrique	0 gr. 5
Eau distillée	99 ml.

7. Laver à l'eau durant 1 minute.
8. Immerger dans une solution saturée d'acide picrique durant deux minutes.
9. Laver à l'eau courante durant 2 minutes.
10. Ajouter quelques gouttes de glycérine et couvrir d'un porte-objet.

Pour les préparations permanentes, passer par les alcools (de 70° à l'alcool absolu), deux fois dans le xylol, et enfin couvrir de baume du Canada.

B. *Coloration des coupes.*

1. Déparaffiner au xylol durant deux fois 5 minutes et passer, chaque fois durant 5 minutes, dans les alcools absolus, à 95°, à 70°, et enfin dans l'eau distillée.
2. Immerger dans l'acide periodique à 1 % durant 2 minutes.
3. Laver à l'eau courante durant 2 minutes.
4. Couvrir de fuchsine basique durant 2 minutes (comme dans A).
5. Laver à l'eau courante durant 2 minutes.

6. Immerger durant 10 à 30 minutes dans le mélange bisulfite de soude-acide tartrique.
7. Laver à l'eau courante durant 1 minute.
8. Recouvrir de la solution saturée d'acide picrique durant 2 minutes.
9. Laver à l'eau courante durant 2 minutes.
10. Déshydrater et couvrir de baume du Canada.

La technique de Loffgren et Batt's était quelque peu différente de celle rapportée ci-dessus, qui se rapproche de celle décrite par Kligman. Ces auteurs, en effet, colorent 5 minutes avec la solution de fuchsine basique et ne décolorent que durant 5 minutes avec la solution de bisulfite-acide tartrique. De plus, ils négligent la coloration de fond à l'acide picrique.

Kligman utilise l'hydrosulfite de zinc. Ce produit nous faisant défaut, nous l'avons remplacé par l'hydrosulfite de soude.

Tous les produits utilisés dans la « reverse technic » se conservent longtemps. Toutefois, le mélange bisulfite de soude-acide tartrique se détériore par libération de SO^2. Ce n'est pas un grand mal, car la solution se prépare facilement et rapidement.

Fixation sur le porte-objet

Un grand nombre de colorations fut réalisé avec ces deux techniques, sur des frottis, des coupes, des cheveux, des squames et des fragments d'ongle. La coloration des frottis et des coupes ne présente pas de difficulté. Par contre, la coloration des cheveux, des squames et des fragments d'ongle en présente plusieurs, dont la plus sérieuse réside dans la fixation de ces objets sur le porte-objet. Chose curieuse, aucun auteur n'en fait mention et pourtant ils n'ont pu faire sans la rencontrer.

Remarquons d'abord que la fixation des squames sur le porte-objet avec une solution d'albumine de Mayer diluée à 1/20, suivant la description de M. Langeron (9), aboutit le plus souvent à un échec. La plupart des squames, même les plus fines, qu'on recueille dans les cas de *Pityriasis versicolor*, se détachent du porte-objet au cours des manipulations ultérieures. La fixation réalisée avec de l'albumine de Mayer non diluée est excellente, malheureusement elle ne permet pas au colorant d'agir, et mycélium et spores restent invisibles. De plus, l'albumine elle-même prend une coloration rouge assez accusée. De nombreux essais nous ont montré qu'on pouvait réaliser une bonne fixation en diluant l'albumine de Mayer au 1/8 ; dans ces conditions, la plupart des squames restent fixées au porte-objet et la coloration des éléments fungiques est très satisfaisante.

La fixation à la gélatine suivant le procédé de Masson (10) ne donne pas de bons résultats, même en utilisant de fortes concentrations de gélatine.

Nous avons tenté de fixer les squames avec le mélange de collodion, d'alcool absolu et d'éther, dans les proportions respectives de 1-2-3, suivant le procédé utilisé par Rivalier (11) pour la fixation des cultures sur lames ; mais, au cours de la coloration, les squames se détachent en même temps que la pellicule de collodion qui les maintenait au porte-objet.

Nous avons essayé d'utiliser comme fixateur de la gélose à 2 p. 100 dans l'eau courante, liquéfiée au moment de l'emploi par chauffage. Après liquéfaction, une goutte de cette gélose est déposée sur les squames, les fragments d'ongle ou les cheveux placés sur le porte-objet. L'expérience nous a montré que cette méthode est excellente et, quoique la gélose soit colorée en rouge par le Hotchkiss-Mac Manus, particulièrement dans la « reverse technic », la coloration des éléments fungiques se fait parfaitement bien.

Préparation des squames et des fragments d'ongle

Une seconde difficulté, déjà signalée par Kligman, réside dans l'épaisseur des squames et des fragments d'ongle. A cause de cette épaisseur, le mycélium dans les préparations colorées est rarement visible, à moins qu'on ait affaire à des objets très minces. Pourtant, dans plusieurs cas, d'abondants éléments fungiques furent démontrés dans ces squames en les traitant, après coloration, par de la potasse caustique ; ce traitement, notons-le, fait disparaître la coloration.

Nous nous sommes efforcé, par diverses méthodes, d'obtenir des squames plus minces. L'emploi de la lame de rasoir donne bien des fragments plus petits, mais l'épaisseur en reste généralement identique. Si l'on traite les squames par de la potasse (à 5 p. 100), puis par de l'eau, avant de pratiquer la coloration, on n'améliore guère le résultat, d'autant plus que, sous l'influence de ce traitement, l'albumine de Mayer utilisée comme fixateur se gonfle et retient mal les squames déposées sur le porte-objet. Nous avons obtenu un meilleur résultat en chauffant les squames avant de les fixer au porte-objet simplement dans de l'eau distillée. Il en résulte un ramollissement des squames, une meilleure transparence et, au total, cette méthode donne plus aisément un résultat positif que les précédentes.

Pour obtenir de fins fragments d'ongle, nous avons pensé à les frotter sur du papier de verre. Cette méthode donne quelques résul-

tats, surtout si l'on utilise du papier très fin, mais néanmoins les cristaux de silicate sont un sérieux obstacle. Nous avons tenté d'améliorer cette technique en faisant tomber le produit du raclage sur papier de verre dans un verre de montre, en l'additionnant d'eau distillée et en recueillant sur un porte-objet la partie la plus superficielle du liquide. Par cette technique, il nous a été possible, dans quelques cas, de mettre en évidence des filaments mycéliens. Il n'en reste pas moins que, jusqu'à présent, aucune méthode ne nous a paru satisfaisante et ne nous a paru remplacer, pour les squames et les fragments d'ongle, le traitement par la potasse caustique.

Résultats

Voici quelques remarques que nous avons faites sur l'application du H-McM ou de la « reverse technic » à divers produits pathologiques :

1) Coloration de cheveux teigneux fixés au porte-objet par de l'albumine de Mayer diluée à 1/8. Les spores sont très nettement colorées. La « reverse technic » se montre légèrement supérieure à la technique directe (H-McM).

2) Coloration des squames. Le mycélium n'est bien coloré que dans les squames très minces. La reverse-technic donne en général un mycélium beaucoup mieux coloré que la technique de H-McM.

Nous recommandons de chauffer les squames dans l'eau avant la fixation : elles deviennent nettement plus transparentes lorsqu'elles sont ainsi traitées. Pour des raisons qui ne nous sont pas apparentes, les préparations colorées par le H-McM nous ont toujours paru plus fortement colorées 24 heures après la coloration que lorsqu'elles sont examinées immédiatement après la coloration. On obtient le même résultat si, après la coloration, on place les préparations dans de l'oxygène ou dans de l'acide carbonique. Les squames elles-mêmes, et non seulement le mycélium, deviennent plus rouges. Ce rougissement provient sans doute du réactif de Schiff qui n'a pas été éliminé. Nous n'avons pas observé ce phénomène avec la « reverse technic ». Il ne nous a semblé d'aucun intérêt d'appliquer une coloration de fond au vert lumière.

3) D'une manière générale, les fragments d'ongle sont très mal colorés et ne montrent que peu ou pas de filaments mycéliens.

4) Des coupes histologiques provenant de cas de *chromoblastomycose* sont parfaitement colorées par l'une et l'autre méthode. Il

n'en va pas de même des éléments parasitaires dus à *Histoplasma duboisii* dans une coupe de testicule de cobaye.

5) Dans des frottis, les cellules et les filaments de LEVURES (*Candida albicans*) sont très nettement colorés. Il en est de même de frottis préparés à partir de CULTURES de *Candida albicans*. Des frottis préparés à partir de cerveaux de souris inoculées avec *Torulopsis* (*Cryptococcus*) *neoformans* montrent, après coloration, des cellules de levure très nettement colorées en rouge, tandis que la capsule est légèrement rosée. Les deux techniques ont donné des résultats comparables.

6) Les CULTURES SUR LAMES, faites suivant la technique de Rivalier-Seydel (12), ont été colorées suivant les deux techniques. L'emploi de la « reverse technic » exige une décoloration prolongée par la solution de bisulfite de soude, parce que l'agar-agar se colore intensément en rouge par la fuchsine basique. Le résultat obtenu est satisfaisant. Cependant, il nous a paru que les résultats étaient meilleurs lorsqu'on employait la coloration au bleu-coton pour des cultures sur lames de *Ctenomyces interdigitalis*, de *Trichophyton rubrum*, de *Sabouraudites canis*, d'*Epidermophyton floccosum* et de *Langeronia soudanensis*.

Des cultures sur lames de diverses souches de *Candida* colorées par le H-McM sont parfaitement colorées, qu'il s'agisse du pseudo-mycélium ou des éléments de levure. La « reverse technic » donne des résultats moins favorables à cause de la coloration intense de l'agar-agar.

7) Des CULTURES SUR CHEVEUX faites suivant la technique de Vanbreuseghem montrent, après coloration, les filaments mycéliens le long du cheveu. A l'intérieur du cheveu, on ne trouve aucun élément mycélien. Les organes perforateurs ne sont pas colorés, mais sont très nettement visibles. Il est recommandable de chauffer très légèrement l'albumine de Mayer diluée, dans laquelle on a placé le cheveu, pour le rendre plus transparent. L'emploi de la « reverse technic » donne, dans ce cas, des résultats supérieurs au H-McM.

8) Nous avons accordé une attention particulière à la recherche du *mosaic fungus*. On ne le trouve ni dans les préparations colorées, ni dans les préparations décolorées. Par contre, on le trouvait aisément dans des préparations de même origine traitées par KOH. Ces constatations ne sont certes pas en faveur de l'origine fungique du mosaic fungus. En traitant par du KOH des préparations colorées, négatives au point de vue mosaic fungus, on pouvait en constater la présence.

Conclusions

La préparation et la coloration de squames, de fragments d'ongle, de cheveux, par la technique de Hotchkiss-Mac Manus ou par la « reverse technic », prend beaucoup de temps. La préparation du réactif de Schiff est longue et ce réactif est instable.

L'examen des squames et des fragments d'ongle par la potasse caustique (ou par le chlorallactophénol dans le cas de *Pityriasis versicolor*) est beaucoup plus rapide et, selon nous, donne des résultats plus constants.

Toutefois, on peut recommander la méthode de Hotchkiss-Mac Manus pour la coloration des frottis et des coupes dans des cas suspects de moniliase, de torulose, d'histoplasmose, etc...

Bibliographie

1. Kligman (A. M.) et Mescon (H.). — The periodic-acid-Schiff stain for demonstration of fungi in animal tissue. *Jl. Bact.*, 1950, 60, 415.
2. Kligman (A. M.), Mescon (H.) et Delamater (E. D.). — The Hotchkiss MacManus stain for the histopathologic diagnosis of fungus diseases. *Am. Jl. Clin. Path.*, 1951, 21, 86.
3. Gadrat (J.), Bazet (A.) et Dupré (A.). — La réaction d'Hotchkiss-MacManus comme méthode courante de détection des mycoses en dermatologie. *Bull. Soc. Franç. Derm. et Syph.*, juillet-oct. 1952, 375.
4. Kligman (A. M.), Pilsburg (D. M.) et Mescon (H.). — Improved technic for diagnosing ringworm infections and moniliasis. *J.A.M.A.*, 1951, 146, 1563.
5. Kligman (A. M.). — The diagnosis of fungus infections with particular reference to staining methods.
6. Loffgren et Batt's. — *Standford Med. Bull.*, 10-2-1952.
7. Hotchkiss (R. D.). — A micro-chemical reaction resulting in the staining of the polysaccharide structures in fixed tissue preparations. *Arch. Biochem.*, 1948, 16, 131.
8. Arzac (P.). — A simple histochemical reaction for aldehydes. *Stain technol.*, 1950, 25, 187.

9-10. Langeron (M.). — *Précis de Microscopie*, Masson, Paris, 7e édit., 1949.

11-12-13. Langeron (M.) et Vanbreuseghem (R.). — *Précis de Mycologie*, Masson, Paris, 2e édit. 1952.

(Travail effectué au Laboratoire de Mycologie médicale du Dr R. Vanbreuseghem, à l'Institut de Médecine Tropicale à Anvers. Directeur : Prof. A. Dubois).

REVUE CRITIQUE

LES PHLÉBOTOMES DE FRANCE ET LEUR DISTRIBUTION RÉGIONALE

Par J. H. RAYNAL

Ed. et Et. Sergent, les premiers, pensèrent que le Phlébotome pouvait jouer un rôle en pathologie médicale. En 1904, ils tentaient sur eux-mêmes, à Biskra, la transmission du bouton d'Orient, transmission que, par la suite, eux et leurs collaborateurs devaient bien préciser à l'Institut Pasteur d'Alger. Ils constataient, au cours de ces premiers essais [116], que les piqûres d'une quinzaine de petits Diptères appartenant au genre *Phlebotomus* (famille des Psychodidés), et capturés dans des chambres de malades, ne donnaient pas de résultats positifs, non plus que celles de *Grabhamia subtilis*, petit Culicidé assez commun dans cette oasis.

Ainsi, avant le mémorable travail de Grassi sur les Phlébotomes d'Italie [33], cette observation attirait déjà l'attention sur la présence, dans le bassin méditerranéen occidental, de ces petits Insectes piqueurs, jusqu'alors très imparfaitement connus et seulement de zoologistes très spécialisés.

⁂

En 1908-1909, les travaux sur la fièvre à pappataci, ou fièvre des trois jours, poursuivis sur la côte dalmate par Doerr, Franz et Taussig [22, 23], mirent réellement en vedette les Phlébotomes sur le plan de l'entomologie médicale européenne.

Blanchard [7], en 1909, indique pour la première fois leur présence en France dans les Alpes-Maritimes. Simultanément, Blanchard [7] et Villeneuve [125] mentionnent que V. Mayet les aurait déjà rencontrés, dès 1906, aux environs de Montpellier.

Dès lors, les Phlébotomes font, en France, l'objet de communications répétées. Lesné les trouve dans la Côte-d'Or en 1909 [57], Rouyer [108] signale en 1911 la coexistence de certaines fièvres indéterminées et des Phlébotomes dans les Basses-Alpes, les Hautes-Alpes et l'Isère. A Saint-Cyr-au-Mont-d'Or, dans le Rhône, Aubert les mentionne en 1912 [6], fait que Langeron rapporte aussitôt à la Société de Biologie de Paris [35]. Toujours en 1912, Lesné fait de nouvelles captures en Bourgogne [58] ; de même, Léger et Séguinaud [56], près de Bastia où sévit chaque année, durant les mois chauds, des états fébriles éphémères et où Mansion retrouve lui aussi des Phlébotomes en 1913 [59].

D'autres localités françaises infestées sont encore indiquées : Bourg-la-Reine par Langeron en 1914-1916 [36], Vignacourt dans la Somme par Legendre en 1916 [53], Bron-Village dans le Rhône par Mansion en 1920 [61], Clermont-Ferrand par Roubaud [106], et Saint-Menet dans les Bouches-du-Rhône par Pringault [89]. Couvy, sans en préciser l'espèce, communique à Marchoux [62] qu'il avait été assailli fin juillet par des Phlébotomes à Aigre dans la Charente et qu'il en avait trouvé plusieurs soirs de suite à Royan (Charente-Inférieure) en août, puis à Fréjus (Var) en octobre.

⁂

Ces constatations restaient néanmoins assez limitées car, il faut bien le dire, les Phlébotomes, Insectes de très petite taille, difficilement visibles et d'une agilité surprenante, échappent facilement à l'observation. Elles étaient de plus incomplètes quant à la spécification exacte des Phlébotominés en cause parce que, suivant les vues de Grassi, on pensait, au début de ces recherches [88], que le genre *Phlebotomus* se limitait en Europe à l'espèce *papatasi*. C'est ainsi qu'à peu d'exemplaires près, tous les Phlébotomes signalés en France étaient inconsidérément rapportés à *Phlebotomus papatasi*.

Les premiers travaux de Newstead sur les Phlébotomes des îles de l'archipel maltais [65] apportèrent la notion d'espèces différentes de plus en plus nombreuses. De 1911 à 1923, cet auteur donnait la description de multiples Phlébotomes, pour la plupart extra-européens il est vrai, chez lesquels il basait ses déterminations non seulement sur l'armure génitale caractéristique des mâles mais encore sur de nombreux autres caractères externes, tels que : la formule basée sur la longueur des articles des palpes, certaines marques antennaires, les dispositions des nervures de l'aile, les rapports entre les longueurs des différents segments de l'insecte...

En France et dans les pays limitrophes, de semblables déterminations d'espèces différentes ne prirent réellement corps que lorsque les normes prônées par Parrot [75] et par Franca [29], codifiées ensuite par ces auteurs [28, 30] et appliquées par Larrousse [41, 42] s'exercèrent à pouvoir mieux distinguer entre eux *Phlebotomus papatasi* de *Phlebotomus perniciosus* et de *Phlebotomus minutus*, surtout quand il s'agissait d'exemplaires femelles.

C'est ainsi que *Phlebotomus perniciosus* était authentifié avec quelque raison par Parrot en 1922 à La Garenne [76], en 1923 par Larrousse à Savignies dans l'Oise [43], et par Foley à Vignory en Haute-Marne [25], en 1924 par Legendre en Charente [54], enfin en 1925 par Langeron à Bourg-la-Reine [38] et par Larrousse à Dijon et à Banyuls-sur-Mer [44] ; dans cette dernière localité il était trouvé en même temps que de nombreux exemplaires mâles et femelles de *Phlebotomus minutus*.

⁂

S'il était relativement facile, au détail des forcipules caractéristiques des derniers segments de l'abdomen, de différencier les mâles, la spécification s'avérait très ardue pour les femelles : leurs ailes ne sont pas, comme chez les Anophèles, pourvues d'écailles plus ou moins sombres à rangement symptomatique et les diverses mensurations et rapports de la « phlébotométrie », s'ils donnaient des approximations, laissaient parfois douter d'une certitude absolue. C'est ainsi que *Phlebotomus mascittii* femelle, décrite toujours sous l'appellation de *Phlebotomus perniciosus*, ne put être dégagée que plus tard.

C'est le moment, entre 1923 et 1927, où le cycle évolutif des *Leishmania* chez le Phlébotome était mis en évidence et les études sur le rôle transmetteur des Phlébotomes dans les leishmanioses cutanées et viscérales à l'ordre du jour de nombreux laboratoires : à Alger (travaux de Sergent, Parrot, Donatien et Béguet sur la transmission du clou de Biskra), aux Indes (travaux de Knowles, de Christophers, de Shortt à Calcutta sur la transmission du kala-azar hindou, travaux de Sinton sur les Phlébotomes de l'Inde), dans le Proche-Orient et le bassin méditerranéen (travaux d'Adler et Théodor à l'Université de Jérusalem sur la transmission de la leishmaniose viscérale infantile), en Chine (travaux de Patton et Hindle, de Young et Hertig sur le kala-azar chinois).

Des progrès s'inscrivent alors pour ce qui est de nos connaissances sur les Phlébotomes. De meilleurs critères dans leur diagnose

sont acquis dès 1927, lorsque l'examen de certains organes internes, appareil chitineux bucco-pharyngé et spermathèques des femelles, introduit par les chercheurs britanniques [1, 118, 119, 121], permit de baser sur des caractères importants la détermination des espèces.

*
**

Grâce à ces méthodes de détermination plus précises, la présence de six espèces différentes de Phlébotomes fut confirmée sur le sol français dès 1932. A cette date, en effet, Langeron et Nitzulescu mettent de l'ordre dans les spécifications faites antérieurement en France [40]. Ils les reprennent en examinant à nouveau les échantillons déjà décrits qu'ils eurent la bonne fortune de retrouver conservés dans les collections du Muséum d'Histoire Naturelle ou du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris. Ils rejettent systématiquement celles des femelles antérieurement décrites sur lesquelles un doute ne peut être levé. Ils font état de deux espèces, nouvelles pour la France, mentionnées en 1930 [71] et en 1931 [39].

Les travaux parus depuis n'ont pas décelé la présence d'autres espèces de Phlébotomes en France. Ils ont par contre élargi leur aire de répartition et ont confirmé, par ordre de leur plus large distribution, la présence des espèces suivantes :

1. *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911.
2. *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908.
3. *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921.
4. *Phlebotomus minutus* Rondani, 1843.
5. *Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786.
6. *Phlebotomus sergenti* Parrot, 1917.

Suivant la classification simple à laquelle nous restons fidèle [98], *Phlebotomus mascittii* appartient au groupe des Phlébotomes à spermathèques striées, *Phlebotomus minutus* à celui des Phlébotomes à spermathèques lisses et les quatre autres espèces à celui des Phlébotomes à spermathèques crénelées.

Phlebotomus perniciosus et *Phlebotomus mascittii* ont une distribution étendue en France ; ils ont été trouvés jusque dans le bassin parisien et l'Alsace. *Phlebotomus ariasi* est surtout une espèce du Sud-Ouest et de l'Ouest. Quant aux trois dernières espèces, *Phlebotomus minutus, Phlebotomus papatasi* et *Phlebotomus sergenti*, elles se limitent jusqu'ici au littoral méditerranéen.

Les Phlébotomes adultes se manifestent seulement une partie de l'année en France : pendant les mois chauds, de mai à octobre dans la région méditerranéenne, pendant une durée souvent plus réduite à mesure que l'on remonte vers le Nord et axée sur juillet-août. Ils apparaissent par vagues successives correspondant à des éclosions larvaires cycliques et en raison inverse des périodes de pluie et de vent pendant lesquelles les captures sont beaucoup plus laborieuses.

Sauf *Phlebotomus minutus* qui se nourrit sur des animaux à sang froid et pour ce qui concerne les femelles, tous les Phlébotomes cités ci-dessus peuvent prendre leurs repas sanguins sur l'homme.

PHLEBOTOMUS PERNICIOSUS Newstead

Phlebotomus perniciosus a été décrit par Newstead en 1911 d'après des exemplaires recueillis à Malte [65].

C'est une espèce européenne et du Nord-Afrique qui se retrouve jusqu'à Tamanrasset dans le Hoggar.

Elle est accusée de transmettre la leishmaniose canine et la leishmaniose viscérale humaine dans le bassin méditerranéen.

De taille assez grande (2 à 3 mm.), son indice alaire oscille entre 1,5 et 1,7.

Ses principales caractéristiques sont :

— pour le mâle : cinq longues épines sur le segment terminal de la gonapophyse supérieure et des valves copulatrices cylindriques allongées, se terminant en fourche bifide ;

— pour la femelle : des spermathèques nettement crénelées (11 à 13 anneaux empilés les uns sur les autres), dont la tête est portée par un col long et étroit ; il n'y a pas d'armature buccale ; l'armature pharyngienne est plutôt peu développée, consistant en rangées parallèles de denticulations punctiformes.

Sinton [120], étant donné la parenté reconnue entre *Phlebotomus major* et *Phlebotomus perniciosus* (denticulations pharyngiennes, morphologie des spermathèques), considérait *P. perniciosus* comme une variété de *P. major*. Cette notion n'a pas prévalu.

D'autre part, des Phlébotomes décrits sous les noms de *nigerrimus, legeri, lusitanicus* n'ont pas été retenus comme espèces valables et sont considérés comme synonymes de *P. perniciosus*.

- *Phlebotomus perniciosus* var. *nigerrimus* Newstead 1911 [65]

est une variété mélanique rare, seulement rencontrée à Malte et qui ne diffère que par une coloration plus sombre.

— *Phlebotomus legeri* Mansion 1913, exemplaire de Corse [59, 60] et *Phlebotomus lusitanicus* Franca 1918, exemplaire du Portugal [26], furent créés en raison de la description de *P. perniciosus* par Newstead assez incomplète à l'origine [65]. Sans doute peut-il apparaître de légères variations régionales chez *P. perniciosus*, mais elles ne semblent pas une raison suffisante pour légitimer la création d'espèces ou de variétés nouvelles.

La plupart des auteurs sont d'accord pour identifier les formes de Mansion et de Franca au *Phlebotomus perniciosus* [41]. Franca lui-même abdique d'ailleurs en 1919 sa première façon de voir et décrit son *P. lusitanicus* de 1918 sous le nom de *Phlebotomus perniciosus* [27].

Nicoli est revenu récemment sur la question du *Phlebotomus legeri* de Corse [68, 69, 70]. Il tend à individualiser ce Phlébotome comme une race géographique insulaire sous le nom de *Phlebotomus perniciosus legeri* Mansion 1913. Il est dommage que son étude ne s'attache qu'à des indices biométriques ; il ne parle à aucun moment de l'aspect des organes internes (appareil pharyngé, valves copulatrices et spermathèques), si importants pour la diagnose et qui peut-être donneraient des arguments plus convaincants à la thèse qu'il soutient, d'autant que les Phlébotomes décrits par Mansion n'ont pas fait l'objet de ces investigations.

Phlebotomus perniciosus est l'espèce de beaucoup la plus fréquente et la plus largement distribuée en France, car on la retrouve dans toutes les régions, jusqu'à la limite nord de la région parisienne. Les localités où il a été jusqu'ici rencontré sont, par départements, les suivantes :

— Corse : *Bastia* (plage de Toga), 1913. Mansion [59] *sub-nomine Phlebotomus legeri :* 56 mâles et 19 femelles capturés du 11 septembre au 20 octobre 1913.

Ajaccio, 1947. Chambost et Houdemer [14] : 2 femelles en septembre 1945.

Rezza (canton de Salice), 1951. Nicoli [68] : 25 mâles et 15 femelles en juillet-octobre 1950. — 1953. Nicoli [70] : nombreux exemplaires pendant l'été 1951.

Azzana, 1953. Nicoli [70] : nombreux exemplaires pendant l'été 1951.

— Alpes-Maritimes : *Saint-Vallier-du-Thiey,* 1909. Blanchard [7], *sub-nomine Phlebotomus papatasi :* exemplaires capturés par Guébhardt en août 1908. Larrousse, examinant à nouveau ces exem-

plaires en 1920 [41], établit pour eux le diagnostic de *Phlebotomus perniciosus*, détermination facilitée par la présence de nombreux mâles. Cependant, d'après Nitzulescu [71], certains d'entre eux appartiendraient aussi à l'espèce *P. ariasi*.

La-Théoule, 1952. Le Gac, Floch et Chassignet [52] : 4 mâles et 3 femelles.

— Var : *Callian*, 1932. Langeron et Nitzulescu [40] : 6 femelles (exemplaires capturés par Berland en 1920 et conservés dans la collection du Muséum d'Histoire Naturelle ; identifiés en 1932).

Saint-Raphaël, 1936. Le Gac [51] : 1 femelle capturée le 16 septembre 1936. — 1948. Colas-Belcour et Abonnenc [19] : 137 mâles et 73 femelles capturés par Le Gac en août 1946.

Toulon-sur-Mer, 1937. Le Chuiton, Le Gac et Pennaneac'h [49] : 14 mâles et 14 femelles capturés en août-septembre 1937.

Les Darboussèdes (banlieue de Toulon), 1945. Bourgain [9] : 14 exemplaires capturés du 14 au 21 juillet 1944.

— Bouches-du-Rhône : *Saint-Menet* (près Marseille), 1920. Pringault [89] capture 137 Phlébotomes mâles et 59 femelles ; il ne put identifier que les mâles qui comprenaient 130 *P. perniciosus* (associés à 5 *P. sergenti* et 2 *P. minutus*).

Marseille, 1933. Raynal et Le Gac [93] : 27 mâles et 207 femelles, dont 8 mâles et 3 femelles capturés dans le Centre (rue de Lodi et rue du Châlet) et 19 mâles et 204 femelles capturés sur la Corniche (Pharo, Endoume et Malmousque) pendant l'été 1932. — 1953. Nicoli [70] : nombreux exemplaires capturés au Pharo pendant l'été 1951.

La Rose (banlieue Nord de Marseille), 1933. Raynal et Le Gac [93] : 95 mâles et 84 femelles capturés pendant l'été 1932.

Les-Trois-Lucs (banlieue Est de Marseille), 1933. Raynal et Le Gac [93] : 1 femelle capturée en septembre 1932.

Montolivet (banlieue Est de Marseille), 1953. Nicoli [70] : nombreux exemplaires capturés pendant l'été 1951.

— Gard : *Congéniès*, 1949. Vermeil [124] : 8 mâles et 1 femelle capturés en septembre 1948.

— Ardèche : *Privas*, 1938. Clastrier [15] : 123 mâles et 56 femelles capturés du 26 juin au 18 juillet 1937 (associés à *P. ariasi*).

— Pyrénées-Orientales : *Banyuls-sur-Mer*, 1925. Larrousse [44] : 1 mâle et 3 femelles capturés par Lavier en août-septembre 1924 (associés à *P. minutus*).

Vernet-les-Bains, 1932. Langeron et Nitzulescu [40] : 1 femelle capturée par Vassal et envoyée au Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris pour détermination.

— Haute-Garonne : *Toulouse*, 1936. Ristorcelli [99] : 1 femelle capturée en août 1936.

— Lot : *Luzech*, 1935. Senevet [115] : plusieurs mâles capturés en août 1927.

— Gironde : *Bennetan* (près de Bordeaux), 1949. Bourgain [11] : 59 mâles et 52 femelles capturés en août 1948 (associés à 11 mâles et 4 femelles de *P. ariasi*).

— Dordogne : *Cubjac*, 1935. Senevet [115] : plusieurs mâles capturés en août 1932.

— Charente-Inférieure : *Pons*, 1924. Legendre [54] : plusieurs femelles capturées en juillet-août 1924 et identifiées par Roubaud. — 1929. Legendre [55] : 5 mâles et 42 femelles capturés pendant l'été 1929.

La Rochelle, 1926. Rossi [104] : mâles et femelles capturés en juin-septembre 1926 et identifiés par Roubaud.

— Charente : *Charras*, 1949. Durand-Delacre [24] : 1 mâle et 2 femelles capturés en août 1948.

Angoulême, 1949. Durand-Delacre [24] : 6 mâles et 15 femelles capturés en août-septembre 1948.

— Vienne : *Poitiers*, 1948. Rageau [90] : 27 mâles et 30 femelles capturés pendant l'été 1946, 18 mâles et 6 femelles pendant l'été 1947.

Champigny-le-Sec (près Poitiers), 1948. Rageau [90] : 23 mâles et 21 femelles capturés pendant l'été 1946, 2 femelles pendant l'été 1947 (associés à *P. ariasi*).

— Indre : *Argenton-sur-Creuse*, 1936. Parrot [80] : 1 mâle et 3 femelles capturés par Plantureux en août 1936.

— Puy-de-Dôme : *Clermont-Ferrand*, 1920. Roubaud [106] : 1 femelle capturée en 1906 et déterminée comme *P. perniciosus* en 1921 [107]. — 1944. Callot [12] signale *P. perniciosus* comme très commun dans les maisons pendant l'été dans la même localité.

— Rhône : *Saint-Cyr-au-Mont-d'Or* (près de Lyon), 1912. Langeron [35] *sub-nomine Phlebotomus papatasi* : 3 femelles capturées en 1911 par Aubert [6]. Langeron et Nitzulescu ayant examiné à nouveau ces exemplaires en 1932 [40] les identifient à *Phlebotomus perniciosus*. — 1943. Roman et Coudert [101] : 3 mâles et 14 femelles capturés de 1931 à 1938 pendant l'été.

Bron-Village (près de Lyon), 1920. Mansion [61] *sub-nomine Phlebotomus papatasi :* 1 femelle, déterminée par Parrot [75] et par Franca [29] en 1921 comme étant *Phlebotomus perniciosus*.

Lyon (côteau de Fourvière), 1943. Roman et Coudert [101] : 1 femelle.

Saint-Didier-au-Mont-d'Or (près de Lyon), 1943. Roman et Coudert [101] : 15 mâles et 8 femelles capturés pendant les étés de 1931 à 1938.

— Saône-et-Loire : *Mâcon*, 1935. Rossi [105] : nombreux phlébotomes mâles et femelles capturés chaque année de 1928 à 1935 et identifiés par Langeron et par Parrot.

— Côte-d'Or : *Dijon*, 1925. Larrousse [44] : 1 femelle capturée par Lavier en août 1924.

— Loiret : *Jargeau*, 1935. Lavier [45] : 2 femelles capturées en juillet 1934.

Malesherbes, 1937. Lavier [46] : 1 mâle capturé en août 1936.

— Indre-et-Loire : *Richelieu*, 1934. Nitzulescu et Dollfus [73] : 2 femelles capturées par Dollfus pendant l'été 1933.

— Maine-et-Loire : *Saint-Rémy-de-Varenne*, 1932. Langeron et Nitzulescu [40] : 1 femelle capturée par Du Buysson en 1906 et appartenant à la collection du Muséum d'Histoire Naturelle.

— Mayenne : *Mayenne*, 1932. Langeron et Nitzulescu [40] : 1 femelle capturée par Blanc et appartenant à la collection du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris.

— Eure-et-Loire : *Coulomb* (près de Nogent-le-Roi), 1936. Colas-Belcour et Tisseuil [18] : 1 femelle capturée par Wollmann en juillet 1935.

— Seine-et-Oise : *Brunoy*, 1932. Langeron et Nitzulescu [40] : 1 femelle capturée en juillet 1923 par Lesné et appartenant à la collection du Muséum d'Histoire Naturelle.

Etampes, 1940. Lavier et Ristorcelli [48] : 1 femelle capturée par Lavier en août 1939.

Pontoise, 1940. Lavier et Ristorcelli [48] : 1 femelle capturée par Ristorcelli en août 1939.

— Seine-et-Marne : *Provins*, 1936. Le Gac [50] : 3 femelles capturées le 10 août 1936. — 1939. Colas-Belcour et Romana [17] : plusieurs exemplaires mâles et femelles capturés par Romana pendant l'été 1939.

Melun, 1939. Ristorcelli [100] : 12 femelles capturées en 1936 par le Dr Lamy.

— Seine : *Bourg-la-Reine*, 1916. Langeron [36] et 1925. Langeron [37] *sub-nomine Phlebotomus papatasi* : plusieurs exemplaires femelles identifiés en 1932 comme *Phlebotomus perniciosus* [40]. — 1925. Langeron [38] : 6 mâles et 1 femelle capturés en juillet-août 1925.

La Garenne, 1922. Parrot [76] : 1 mâle capturé le 4 août 1922.

Asnières, 1932. Langeron et Nitzulescu [40] : 1 femelle capturée

en juillet 1923 par Lesné et appartenant à la collection du Muséum d'Histoire Naturelle.

Issy-les-Moulineaux, 1948. Rageau [90] : 1 mâle et 1 femelle capturés fin juillet 1947.

— Iles Anglo-Normandes : *Jersey*, 1923. Marett [63] : 1 mâle déterminé par Newstead.

PHLEBOTOMUS MASCITTII (Grassi)

Phlebotomus mascittii est une espèce européenne qui ne semble pas dépasser en latitude le 45e degré de latitude Nord. On l'a trouvée en Grèce, en Crète, en Yougoslavie, en Italie et en France, mais, jusqu'à plus ample informé, elle ne paraît affecter ni la péninsule ibérique ni l'Afrique du Nord.

De grande taille (2,6 à 3,3 mm.), l'indice alaire, dans les deux sexes, est élevé et toujours supérieur à 2, habituellement compris entre 2,3 et 3.

Ses principales caractéristiques sont :

— pour le mâle : cinq longues épines, comme *Phlebotomus perniciosus*, sur le segment terminal de la gonapophyse supérieure de l'armure génitale et valves copulatrices allongées, subcylindriques, à extrémité distale régulièrement arrondie ;

— pour la femelle : spermathèques striées à double élargissement ampullaire, dont l'antérieur est en forme de « bonnet de coton », la tête formant le petit pompon terminal ; armature buccale absente ; pharynx présentant à sa partie postérieure de nombreux replis anguleux et squamiformes donnant l'image de dents nettement caractérisées.

L'authenticité de cette espèce, bien établie maintenant, a connu quelques vicissitudes.

Elle a été décrite en 1908 par Grassi [34] à partir d'adultes des deux sexes provenant de l'élevage de larves recueillies dans une cave de Rome. Tout le matériel de cet auteur semble avoir été perdu à l'exception d'un seul co-type mâle qui fut redécrit par Newstead en 1914 [66]. Cet auteur, en insistant sur la difficulté de distinguer *Phlebotomus mascittii* de *Phlebotomus perniciosus*, signalait cependant deux caractères différents : une plus grande taille et un indice alaire plus élevé chez *P. mascittii*. Quant à l'épine supplémentaire (sixième épine) qu'il décrit au segment distal de la gonapophyse supérieure du co-type, tous les auteurs sont d'accord maintenant pour penser qu'il s'agit d'une anomalie individuelle telle qu'on en rencontre parfois chez les Phlébotomes, car Grassi avait bien caractérisé son espèce comme ne portant que cinq épines.

Adler et Théodor [4], examinant en 1931 180 mâles et 678 femelles de *Phlebotomus perniciosus* en Italie (Bosco Trecase, Catane, Naples, Rome...), ne trouvèrent pas un seul échantillon qui pût faire penser au *Phlebotomus mascittii* de Grassi. Ils émirent l'opinion — et cette notion prévalut donc sans qu'on pût la confirmer — qu'il y avait sans doute synonymie entre *P. perniciosus* et *P. mascittii.*

Revenant en 1944 sur cette question, Parrot [86] insiste sur certains caractères présentés par les dessins de Newstead et qui tendent à rapprocher le co-type de Grassi, non pas de *Phlebotomus perniciosus* mais de *Phlebotomus larroussei,* espèce décrite en 1931 en France par Langeron et Nitzulescu [39], redécrite en Italie quelques mois plus tard par Adler et Théodor [4], sous le nom de *Phlebotomus vesuvianus*, et en Yougoslavie en 1932 par Simic [117] sous le nom de *Phlebotomus perniciosus* var. *nitzulescui.* En 1940, Sacca [110] avait d'ailleurs retrouvé cette espèce (*sub-nomine P. larroussei*) à Rome, dans les environs mêmes des lieux où Grassi avait recueilli ses larves et, en 1948, Sacca affirme qu'on ne doît plus douter que *P. larroussei* soit synonyme de *P. mascittii* [113].

Cependant *Phlebotomus larroussei,* avec lequel étaient tombés en synonymie *P. vesuvianus* et *P. perniciosus* var. *nitzulescui,* n'était connu en France que par des exemplaires femelles et le doute subsistait encore.

C'est la capture d'un mâle à Charras (Charente) qui vient de permettre tout récemment à Parrot et Durand-Delacre [87] de mettre un point final à l'histoire de *Phlebotomus mascittii.* Ce mâle est en tous points conforme aux descriptions des exemplaires italiens par Grassi [34] et par Newstead [66] et à celles des mâles de *Phlebotomus larroussei,* jusqu'ici très rares, capturés en Yougoslavie [117] et en Crète [81, 5].

Phlebotomus mascittii Grassi 1908 est donc la seule espèce véritablement valable et les noms de *larroussei, vesuvianus* et *perniciosus* var. *nitzulescui* tombent en synonymie avec lui.

Phlebotomus mascittii se rencontre dans toutes les régions de France, sauf dans l'extrême-Nord. Mais il est partout, là où on le capture, beaucoup plus rare que *Phlebotomus perniciosus.* Voici la liste des localités où il a été identifié.

— Bouches-du-Rhône : *La Rose* (banlieue Nord de Marseille), 1932. Raynal et Le Gac [92], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 1 femelle capturée pendant l'été 1932.

— Hautes-Pyrénées : *Capvern-les-Bains,* 1934. Raynal et Le Gac [97], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 1 femelle capturée par Le Gac en août 1933.

— Charente : *Excideuil-sur-Vienne,* 1936. Colas-Belcour et Tisseuil [18], *sub-nomine Phlebotomus larroussei :* 1 femelle capturée en juillet 1935.

Girac, 1949. Durand-Delacre [24], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 1 femelle capturée le 3 août 1948.

Angoulême, 1949. Durand-Delacre [24], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 1 femelle capturée en août 1948.

Charras, 1952. Parrot et Durand-Delacre [87] : 1 mâle et 1 femelle capturés par Durand-Delacre en juillet 1952.

— Vienne : *Poitiers,* 1948. Rageau [90], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 4 femelles en juillet 1946 et 2 femelles en août 1947.

Champigny-le-Sec, 1948. Rageau [90], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 8 femelles en août 1946 et 2 femelles en août-septembre 1947.

— Corrèze : *Argental,* 1952. Parrot et Durand-Delacre [87] : 1 femelle récoltée par Sergent.

— Puy-de-Dôme : *Clermont-Ferrand,* 1944. Callot [12], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : femelles données comme fréquentes et fort agressives en juillet et en août.

— Rhône : *Saint-Didier* (banlieue de Lyon), 1943. Roman et Coudert [101], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 18 femelles capturées de 1931 à 1938 pendant l'été.

Saint-Cyr-au-Mont-d'Or (banlieue de Lyon), 1943. Roman et Coudert [101], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 2 femelles capturées de 1932 à 1938.

Lyon (quartier de Vaise), 1943. Roman et Coudert [101], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 1 femelle capturée en 1941.

— Côte-d'Or : *Varennes* (près de Beaune), 1909. Lesné [57] et 1912. Lesné [58], *sub-nomine Phlebotomus papatasi* : 3 femelles. Langeron et Nitzulescu ré-examinent en 1931 [39] les exemplaires de Lesné conservés dans les collections du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris et les décrivent *sub-nomine Phlebotomus larroussei.*

— Haute-Marne : *Vignory,* 1923. Foley [25], *sub-nomine Phlebotomus perniciosus* : 1 femelle. Cet exemplaire, en raison de son indice alaire très élevé (3,4), appartient certainement à l'espèce *Phlebotomus mascittii* (*nec Phlebotomus larroussei*) [40]. — 1952. Parrot et Durand-Delacre [87] : 1 femelle récoltée par Foley en 1925.

— Bas-Rhin : *Strasbourg,* 1950. Callot [13], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 1 femelle.

— Seine-et-Marne : *Barbizon,* 1940. Lavier et Ristorcelli [47],

sub-nomine Phlebotomus larroussei : 1 femelle capturée le 2 août 1937 par Lavier.

— Seine : *Bourg-la-Reine*, 1931. Langeron et Nitzulescu [39], *sub-nomine Phlebotomus larroussei* : 4 femelles appartenant aux collections du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris et précédemment décrites par Langeron [36, 37], *sub-nomine Phlebotomus papatasi.*

— Oise : *Savignies* (près de Beauvais), 1923. Larrousse [43], *sub-nomine Phlebotomus perniciosus* : 1 femelle capturée par Joyeux en août 1921. Un nouvel examen de cet exemplaire conservé dans les collections du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris le fait re-décrire en 1931 par Langeron et Nitzulescu, *sub-nomine Phlebotomus larroussei* [39].

— Calvados : *Condé-sur-If*, 1929. Colas-Belcour [16], *sub-nomine Phlebotomus perniciosus* : 1 femelle. Non ré-examiné, mais en raison de son indice alaire élevé (2,3) et du fait qu'il piquait en plein jour, cet exemplaire appartient vraisemblablement à l'espèce *Phlebotomus mascittii* (*nec Phlebotomus larroussei*) [40].

PHLEBOTOMUS ARIASI Tonnoir

Espèce qui, jusqu'à plus ample informé, est uniquement répartie dans l'extrémité occidentale du bassin méditerranéen. On ne l'a rencontrée en effet qu'en Algérie [79, 82, 83], au Maroc [32], au Portugal [21], en Espagne et en France. Si l'on en juge par le nombre des captures, la péninsule ibérique est son territoire d'élection.

Phlebotomus ariasi mâle fut décrit en 1921 par Tonnoir [123] sur des exemplaires capturés à Barcelone (Espagne). La femelle, inconnue jusqu'en 1930 [71], est restée difficile à déterminer jusqu'en 1933 [95, 96].

De grande taille (3 à 3,5 mm.), cette espèce possède un indice alaire voisin de 2.

Ses caractères différentiels sont :

— chez le mâle : cinq épines sur le segment distal de la gonapophyse supérieure et disposées comme chez *Phlebotomus perniciosus*, mais les valves copulatrices sont plus courtes, arrondies et renflées en massue à leur extrémité distale, donnant l'image d'un « battant de cloche » ;

— chez la femelle : armature buccale absente ; armature pharyngienne semblable à celle du *perniciosus*, mais moins développée en hauteur ; spermathèques crenelées, avec 12 anneaux plus ou moins faciles à bien individualiser et d'égales dimensions transverses d'un bout à l'autre, ce

qui donne une forme « en manchon » à l'ampoule crénelée au lieu de la forme « en fuseau » de celle de *Phlebotomus perniciosus* ; le col qui sort de l'ampoule est court et trapu, portant une tête à peine plus large que lui ; enfin les conduits qui font suite postérieurement à l'ampoule, étroits et chitinisés dans la première partie de leur parcours, se dilatent ensuite progressivement et très largement jusqu'à leur abouchement à l'orifice génital.

Cette conformation des conduits de la spermathèque, caractéristique d'*ariasi* et sur laquelle nous avons attiré l'attention avec Le Gac en 1933 et 1934 [95, 96], est le meilleur critère différentiel entre la femelle de *P. ariasi* et celle de *P. perniciosus*, car, chez cette dernière, les conduits restent très étroits et chitinisés tout au long de leur parcours. Elle fut confirmée en 1934 par Parrot [78], puis par Najera Angulo en 1936 [64]. Ainsi que le constatent ces deux auteurs, il n'y a pas de retrécissement postérieur des conduits, disposition qui provenait dans nos préparations, au cours de l'éclaircissement et du montage entre lame et lamelle, de la torsion sur elles-mêmes des parois des conduits, beaucoup plus fragiles à ce niveau.

Le domaine de *Phlebotomus ariasi* en France est surtout la région du Sud-Ouest, voisine de l'Espagne, mais il remonte dans l'Ouest, jusqu'à proximité de la Loire, et on le trouve aussi dans le Sud-Est et dans la vallée du Rhône.

Les stations où il a été rencontré jusqu'ici sont (1) :

— Alpes-Maritimes : *Saint-Vallier-du-Thiey*, 1930. Nitzulescu [71] et 1932. Langeron et Nitzulescu [40] : 3 mâles et 1 femelle appartenant aux collections du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris. Ces quatre exemplaires ont été identifiés dans un lot de Phlébotomes capturé dans cette localité par Guebhardt en 1908, rapporté par Blanchard en 1909, *sub-nomine Phlebotomus papatasi* [7], puis par Larrousse en 1920, *sub-nomine pro-parte Phlebotomus perniciosus* [41].

La Théoule, 1952. Le Gac, Floch et Chassignet [52] : 1 mâle et 2 femelles.

— Var : *Agay*, 1936. Colas-Belcour et Tisseuil [18] : 2 femelles capturées au cours de l'été 1934 par Chorine et Prudhomme.

(1) Donnant en 1952 la répartition géographique de *Phlebotomus ariasi* en France, Le Gac, Floch et Chassignet (52), avec de nombreuses omissions, citent par erreur La Rose, banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône) parmi les localités où se rencontre *Phlebotomus ariasi*. Il s'agit en réalité de *Phlebotomus mascittii* qui, *sub-nomine Phlebotomus larroussei*, fut décrit en 1932 à La Rose par Raynal et Le Gac (92).

Saint-Raphaël, 1948. Colas-Belcour et Abonnenc [19] : 1 mâle capturé en août 1946 par Le Gac.

— Ardèche : *Privas*, 1938. Clastrier [15] : 87 mâles et 105 femelles capturés entre le 26 juin et le 18 juillet 1937.

— Hautes-Pyrénées : *Capvern-les-Bains*, 1933. Raynal et Le Gac [95] : 3 femelles capturées par Le Gac en août 1932. 1934. Raynal et Le Gac [96] : 1 mâle et 6 femelles capturés par Le Gac en août 1933.

Esparros (près de Capvern), 1936. Parrot [79] : 2 mâles et 14 femelles capturés par Donatien en août 1935.

— Basses-Pyrénées : *Rebenacq* (environs de Pau), 1949. Bourgain [10] : 4 mâles et 7 femelles capturés en juillet 1948.

— Gironde : *Bennetan* (environs de Bordeaux), 1949. Bourgain [11] : 11 mâles et 4 femelles capturés en août 1948.

- Dordogne : *Saint-Jean-d'Eyraud* (près de Bergerac), 1933. Parrot [77] : 1 mâle et 2 femelles capturés en juillet 1933.

— Charente : *Charras*, 1949. Durand-Delacre [24] : 2 femelles capturées en août 1948. — 1952. Parrot et Durand-Delacre [87] : 2 mâles et 1 femelle récoltés par Durand-Delacre en juillet 1952.

— Vienne : *Poitiers*, 1948. Rageau [90] : 1 mâle et 2 femelles capturés en août 1947.

Champigny-le-Sec (près de Poitiers), 1948. Rageau [90] : 4 femelles (2 capturées en août 1946 et 2 en août 1947).

PHLEBOTOMUS MINUTUS Rondani

Phlebotomus minutus est connu depuis 1843, époque où Rondani le décrivit de la plaine du Pô dans la région de Parme en Italie septentrionale [103]. Il fut retrouvé en 1911 à Malte par Newstead [65], puis considéré comme le chef de file d'un groupe comprenant de nombreuses espèces, dont le dépouillement a été très laborieux au cours de ces trente dernières années.

Il est toutefois l'unique espèce du groupe *minutus* qui se rencontre dans les régions méridionales de l'Europe Occidentale et sur son littoral méditerranéen (Malte, Italie, France, Portugal, Espagne, Baléares) où il est resté longtemps décrit sous les appellations de *Phlebotomus parroti* et de *Phlebotomus parroti* var. *italicus*. Il a été signalé par Gaschen [31] en Suisse, à Ascona dans le Tessin (*sub-nomine Phlebotomus parroti*). Son aire géographique s'étend aussi vers les Balkans (Corfou, Grèce, Crète), mais il ne se rencon-

tre pas en Afrique du Nord où il est représenté par une de ses variétés : *Phlebotomus minutus* var. *parroti*.

C'est une espèce de petite taille (1,7 à 2 mm.), dont l'indice alaire, dans les deux sexes, est très faible et toujours inférieur à 0,75.

Ses caractères sont :

— chez le mâle : quatre épines apicales ou subapicales sur le segment distal de la gonapophyse supérieure, avec en plus une soie antérieure (épine rudimentaire très grêle, particulièrement longue), s'implantant au haut du tiers inférieur du segment ; valves copulatrices trapues, en forme de « corne d'abondance », se terminant par une pointe arrondie ; l'armature buccale comprend une vingtaine de petites dents très fines, aiguës et séparées entre elles, doublées par une deuxième rangée antérieure de six à dix denticulations toujours très fines et non contiguës ; la plage pigmentée, de forme ovalaire, est peu développée ; l'armature pharyngienne est à denticulations punctiformes, formant des séries linéaires épousant la courbure postérieure du pharynx qui, en somme, est paucidenté ;

— chez la femelle : la cavité buccale est pavée perpendiculairement à son grand axe de quarante-cinq à soixante dents contiguës, placées en palissade à peu près rectiligne ; la plage pigmentée, elliptique, très sombre et même noire, n'atteint pas les bords latéraux de la cavité buccale et possède un prolongement triangulaire antérieur plus pâle ; le pharynx présente quelques fortes épines à pointe postérieure, qui diminuent de taille vers le fond et donnent un aspect relativement paucidenté ; les spermathèques sont à parois lisses et tubulaires ; elles portent à leur extrémité une petite tête invaginée au cœur d'une collerette et elles débouchent près de l'orifice génital par un large conduit commun.

Adler et Théodor ayant cru devoir identifier, en 1926, les Phlébotomes du groupe *minutus* qu'ils avaient récoltés en Palestine [2] avec *Phlebotomus minutus* Rondani 1843, revu par Newstead en 1911, il s'ensuivit quelque confusion dans les spécifications ultérieures et dans la nomenclature des espèces appartenant à ce groupe.

L'année suivante, Adler et Théodor, par l'étude des armatures bucco-pharyngées et des spermathèques, étaient amenés à désavouer le *Phlebotomus minutus* var. *africanus* Newstead 1912, depuis longtemps signalé pourtant comme représentant le groupe *minutus*, en compagnie de *Phlebotomus fallax*, en Afrique du Nord [3] : après étude approfondie de nombreux exemplaires algériens, ils reconnaissaient dans cette variété *africanus* deux espèces bien typiques, l'une inédite, *Phlebotomus parroti*, et l'autre qu'ils assimilaient d'abord à *Phlebotomus minutus* (leur type de Palestine), puis que

Théodor considérait ensuite [122] comme identique à *Phlebotomus signatipennis* décrit par Newstead en 1920 de la Gold Coast [67], tout en ne concédant d'ailleurs à ce dernier que le rang de variété sous l'appellation de *Phlebotomus minutus* var. *signatipennis*.

Dès lors, tous les Phlébotomes du groupe *minutus*, rencontrés sur le littoral méditerranéen d'Europe : exemplaires de Robadilla, de Barcelone et de Banyuls-sur-Mer examinés par Nitzulescu en 1931 [72], exemplaire de Sainte-Maxime (Var) [94], exemplaire des Marais-Pontins (Italie) [109], étaient d'abord étiquetés *Phlebotomus parroti* Adler et Théodor 1927, puis *Phlebotomus parroti* var. *italicus*, variété que Adler et Théodor créaient en 1931 [4] parce que le nombre des dents buccales de ces exemplaires européens était très inférieur à celui présenté par le *Phlebotomus parroti* type d'Algérie.

Cependant Sacca [111], en juin 1942, rapportant à *Phlebotomus parroti* var. *italicus* deux Phlébotomes capturés l'un à Rome et l'autre dans ses environs, se demandait déjà à leur propos si cette variété ne correspondait pas en réalité au *Phlebotomus minutus* que Rondani avait autrefois trouvé en Italie.

Quelques mois plus tard, Parrot [84] déclarait que le véritable *Phlebotomus minutus* Rondani d'Italie et décrit de Malte par Newstead est non point représenté par la forme palestinienne d'Adler et Théodor, mais bien par *Phlebotomus parroti* var. *italicus* du littoral méditerranéen d'Europe qui doit tomber en synonymie avec *Phlebotomus minutus* Rondani. La forme palestinienne d'Adler et Théodor, elle, doit recevoir une autre appellation et Parrot propose de la maintenir au rang d'espèce sous le nom de *Phlebotomus theodori*. Il ajoute que *Phlebotomus parroti* n'est en réalité qu'une variété de *Phlebotomus minutus* Rondani et qu'il doit être désigné sous le nom de *Phlebotomus minutus* var. *parroti*.

Un an plus tard [85] Parrot décrit de façon complète et détaillée *Phlebotomus minutus* Rondani d'Europe méridionale et sa variété nord-africaine *parroti*. Enfin, en 1947, Sacca [112], ayant eu l'occasion d'examiner un certain nombre d'exemplaires de Phlébotomes appartenant à la collection historique de Rondani, conservée depuis plus de cent ans à l'Institut zoologique de Florence, confirme sur pièces que le *Phlebotomus minutus* décrit par Rondani est bien identique à *Phlebotomus parroti* var. *italicus*, ainsi que cela avait été avancé en 1942 par Parrot, ce qui tranche définitivement l'équivoque involontairement créée par Adler et Théodor en 1926.

Phlebotomus minutus femelle se nourrit sur les animaux à sang froid (lézards, tarentes, geckos, serpents) ; il ne peut de ce fait être incriminé en pathologie humaine.

Sa répartition régionale en France se limite au littoral méditerranéen dont les stations jusqu'ici découvertes sont :

— Var : *Sainte-Maxime*, 1933. Raynal et Le Gac [94], *sub-nomine Phlebotomus parroti* : 1 femelle capturée en juillet 1932 par Raynal.

Les Darboussèdes (banlieue de Toulon), 1945. Bourgain [9], *sub-nomine Phlebotomus parroti* : 43 mâles et 39 femelles capturés en juillet 1944.

Saint-Raphaël, 1948. Colas-Belcour et Abonnenc [19] : 11 mâles et 52 femelles déterminés dans un lot de 373 Phlébotomes capturés par Le Gac en août 1946.

Toulon-sur-Mer, 1943. Parrot [85] : 1 mâle qui lui avait été adressé par Rossi en 1935.

— Bouches-du-Rhône : *Saint-Menet* (près de Marseille), 1920. Pringault [89] : 2 mâles (Pringault avait capturé 196 Phlébotomes à Saint-Menet dont 137 mâles et 59 femelles ; il ne put à l'époque identifier que les mâles qui comprenaient 2 *Phlebotomus minutus* Rondani associés à 130 *Phlebotomus perniciosus* et à 5 *Phlebotomus sergenti*).

— Pyrénées-Orientales : *Banyuls-sur-Mer*, 1925. Larrousse [44] : nombreux exemplaires mâles et femelles capturés par Lavier fin août et début septembre 1924.

PHLEBOTOMUS PAPATASI Scopoli

Les Phlébotomes ont pris place dans la nomenclature scientifique avec la description que donna Scopoli en 1786 de *Bibio papatasi* [114]. En 1840, Rondani créa pour cette espèce le genre *Phlebotomus* [102].

Phlebotomus papatasi est fréquemment rencontré en Asie Mineure (Palestine, Transjordanie, Syrie et Mésopotamie). Il a une large distribution géographique qui englobe, vers l'Est, l'Asie Occidentale jusqu'à Calcutta dans l'Inde et Tashkent en Asie Centrale, et vers l'Ouest, le bassin méditerranéen : rivages du continent européen et du Nord-Afrique. Il pousse un prolongement dans le Soudan anglo-égyptien et, par sa variété *bergeroti*, dans les oasis sahariennes jusqu'au Hoggar. Par contre, il semble que sa présence, signalée autrefois plus au Sud (Mauritanie, Soudan...), ne soit pas exacte et que les faits rapportés résultent d'une confusion avec *Phlebotomus roubaudi* qui lui ressemble beaucoup.

Espèce d'assez grande taille (2,5 à 3 mm.), *Phlebotomus papatasi* a un indice alaire variant entre 1,3 et 1,5.

L'appareil génital externe chez le mâle et les spermathèques très spéciales chez la femelle montrent des caractères vraiment pathognomoniques :

— le premier présente cinq épines très courtes et relativement épaisses sur le segment distal de la gonapophyse supérieure ; ce segment distal est lui-même très allongé et étroit ; les gonapophyses médianes sont trilobées ; les gonapophyses inférieures sont armées de deux courtes épines à leur extrémité ; les valves copulatrices sont courtes, trapues, en forme de « coin » à extrémité aiguë ;

— la spermathèque de la femelle est crénelée ; son corps est en forme de « saucisse », avec huit à dix crénelures bien marquées ; sa tête, grande et large, ne présente pas de col et est invaginée dans une large collerette qui la déborde ; les conduits, étroits et striés, aboutissent séparément à l'orifice génital. La cavité buccale est inerme et l'armature pharyngienne apparaît comme un réseau de lignes en « filet de pêche » ; quelques rares dents, se propageant en arrière, peuvent apparaître sur la face profonde, mais habituellement les denticules ne sont pas visibles.

Phlebotomus papatasi joue un rôle bien établi dans la transmission de la leishmaniose cutanée et de la fièvre des trois jours.

Il n'a été jusqu'ici rencontré en France que sur le littoral méditerranéen et dans le Sud-Est. Ainsi que nous l'avons précédemment noté, c'est par erreur qu'il a été signalé autrefois dans diverses localités françaises. Les stations à *papatasi* actuellement dénombrées sont en France :

— Var : *Toulon-sur-Mer*, 1945. Bourgain [8] : 1 mâle capturé en octobre 1944.

— Bouches-du-Rhône : *Marseille*, 1932. Raynal et Le Gac [91] : 1 mâle et 1 femelle capturés en juin 1932 sur la Corniche (Malmousque). — 1933. Raynal et Le Gac [93] : 9 mâles et 4 femelles capturés sur la Corniche (Pharo et Endoume) pendant l'été 1932.

Les Trois-Lucs (banlieue de Marseille), 1933. Raynal et Le Gac [93] : 1 mâle capturé en août 1932.

— Vaucluse : *Gigondas*, 1947. Coudert [20] (nous ne possédons pas de renseignements sur le nombre d'exemplaires capturés)

— Hérault : *Lattes* [126] (près de Montpellier), 1909. Blanchard [7] et Villeneuve [125] : exemplaires récoltés par Valéry Mayet en 1906. (En 1932, Langeron et Nitzulescu [40] ont retrouvé un exemplaire femelle de Mayet au Laboratoire d'Entomologie du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris. Ils ont confirmé le diagnostic de *Phlebotomus papatasi* sur cet exemplaire, mais il n'est pas certain que tous les exemplaires dont font mention Blanchard et Villeneuve aient tous été des *Phlebotomus papatasi*).

PHLEBOTOMUS SERGENTI Parrot

Espèce individualisée par Parrot en 1917 [74].

L'aire de distribution géographique de cette espèce est très étendue et à peu près identique à celle de *Phlebotomus papatasi*. *Phlebotomus sergenti* se retrouve en Asie jusqu'au Nord-Ouest de la Perse et jusqu'au Nord de l'Inde (Punjab) ; il devient plus fréquent à mesure que l'on se rapproche de l'Asie Mineure ; il se rencontre dans tout le bassin méditerranéen jusqu'en Espagne et au Portugal ; il est fréquent en Afrique du Nord : Maroc, Algérie, Tunisie, Fezzan, d'où il pénètre profondément dans le Sahara Central jusqu'au 19e degré de latitude Nord (Iferouane dans le massif de l'Aïr), c'est-à-dire sur la marge méridionale du Sahara, bien au delà du Tropique du Cancer.

De taille moyenne (2 à 3 mm.), cette espèce a un indice alaire oscillant autour de 1,5.

Le mâle possède quatre épines, dont trois fortes et courtes, et une atrophiée sur le segment terminal de la gonapophyse supérieure ; ce segment est piriforme et court (deux fois et demie plus long que large) ; une touffe de poils serrés s'insère sur un tubercule à la base du segment proximal de la gonapophyse supérieure ; gonapophyse moyenne en « brosse », dont les poils sont tournés vers le haut ; valves copulatrices coniques, assez trapues, avec une extrémité mousse arrondie légèrement incurvée ; pompe génitale de grandes dimensions, large et évasée.

Chez la femelle, la spermathèque est crénelée, avec une petite tête dont le col est invaginé dans le corps de l'organe ; ce dernier présente cinq à six crénelures bien marquées, qui vont en se rétrécissant progressivement en arrière ; les conduits sont étroits, striés et séparés jusqu'à leur débouché près de l'orifice génital. La cavité buccale ne possède pas d'armature. Le pharynx, dans sa portion armée, présente de longues dents semblables à des écailles et, de ce fait, la partie postérieure de l'organe donne un aspect écailleux caractéristique.

Le rôle de *Phlebotomus sergenti* dans la transmission de la leishmaniose cutanée a été établi en Asie Mineure, mais il semble moins important que celui de *P. papatasi* dans la même affection.

En France, cette espèce n'est connue que des bords de la Méditerranée dans une seule localité et, depuis la communication de Pringault en 1920, elle n'a pas été revue sur le territoire français.

- Bouches-du-Rhône : *Saint-Menet* (près de Marseille), 1920. Pringault [89] : 5 mâles. (L'auteur avait capturé 196 phlébotomes

dans cette localité, dont 137 mâles et 59 femelles ; il ne put, à l'époque, identifier que les mâles qui comprenaient : outre 5 mâles de *Phlebotomus sergenti*, 130 mâles de *Phlebotomus perniciosus* et 2 mâles de *Phlebotomus minutus*).

Résumé et conclusions

Ce répertoire est une mise au point sur les Phlébotomes de France et sur leur répartition dans les différents départements.

On peut être certain que l'inventaire des localités où leur capture serait fructueuse s'enrichirait encore sérieusement si la recherche de ces Diptères était pratiquée systématiquement.

D'ores et déjà leur fréquence ne saurait laisser indifférent en raison de leur action vulnérante (sauf *Phlebotomus minutus*, toutes les espèces rencontrées en France sont susceptibles de piquer l'homme) et de leur aptitude à transmettre certaines affections dont, sous nos climats, la leishmaniose viscérale humaine et la leishmaniose canine sont sans doute les principales.

Des six espèces qui ont été jusqu'ici recueillies en France, *Phlebotomus perniciosus*, plus fréquent, et *Phlebotomus mascittii*, plus discret, sont les plus largement répartis et remontent jusqu'au delà de la région parisienne.

Phlebotomus ariasi reste plutôt une espèce méridionale (bassin méditerranéen, Sud-Ouest et Ouest).

Les trois dernières espèces, *Phlebotomus minutus*, *Phlebotomus papatasi* et *Phlebotomus sergenti*, sont plus strictement localisées dans le Sud-Est, en bordure de la Méditerranée.

Références bibliographiques

1. Adler (S.) et Theodor (O.). — The mouth parts, alimentary tract and salivary apparatus of the female in *Phlebotomus papatasi*. *Ann. of Trop. Med. and Parasit.*, *20*, 1926, 109.
2. Adler (S.) et Theodor (O.). — On the *minutus* group of the genus *Phlebotomus* in Palestine. *Bull. of Entomol. Res.*, *16*, 1926, 399-405.
3. Adler (S.) et Theodor (O.). — On a collection of *Phlebotomus* sp. of the *minutus* group. *Ann. of Trop. Med. and Parasit.*, *21*, 1927, 61-68.
4. Adler (S.) et Theodor (O.). — A study of the sandfly population in endemic foci of infantile kala-azar in Italy. *Bull. of Entomol. Res.*, *22*, 1931, 105-113.
5. Adler (S.), Theodor (O.) et Witenberg (G.). — Investigations on Mediterranean kala-azar, XI. A study of leishmaniasis in Canea (Crete). *Proc. Roy. Soc. B.*, *125*, 1938, 491-516.

6. Aubert (P.). — Phlébotomes à Saint-Cyr-au-Mont-d'Or. *Lyon Médical, 2,* 1912, 580-583 et 850-853.
7. Blanchard (R.). — Quelques mots sur les *Phlebotomus. Bull. Soc. Entom. de France,* séance du 9 juin 1909, 192-195.
8. Bourgain (M.). — Sur un exemplaire de *Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786, capturé à Toulon. *Bull. Soc. Path. Exotique, 38,* 1945, 145-149.
9. Bourgain (M.). — Contribution à l'étude des phlébotomes du littoral méditerranéen français : présence de *Phlebotomus* (*Brumptius*) *parroti* Adler et Theodor, 1926, aux Darboussèdes (banlieue de Toulon). *Bull. Soc. Path. Exotique, 38,* 1945, 150-158.
10. Bourgain (M.). — Présence de *Phlebotomus* (*Larroussius*) *ariasi,* Tonnoir, dans les Basses-Pyrénées. *Bull. Soc. Path. Exotique, 42,* 1949, 562-563.
11. Bourgain (M.). — Présence de *Phlebotomus* (*Larroussius*) *ariasi,* Tonnoir, 1921, et de *Phlebotomus* (*Larroussius*) *perniciosus,* Newstead, 1911, en Gironde. *Bull. Soc. Path. Exotique, 42,* 1949, 564-566.
12. Callot (J.). — Localités nouvelles pour quelques Nématocères piqueurs. *Ann. Parasit. hum. et comp., 20,* 1944-1945, 207-208.
13. Callot (J.). — Présence de *Phlebotomus larroussei* en Alsace. *Ann. Parasit. hum. et comp., 25,* 1950, 112.
14. Chambost (L.) et Houdemer (E.). — Capture de *Phlebotomus perniciosus* Newstead à Ajaccio (Corse). *Bull. Soc. Path. Exotique, 40,* 1947, 361-362.
15. Clastrier (J.). — Observations sur les phlébotomes de la région de Privas (Ardèche). *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 16,* 1938, 31-35.
16. Colas-Belcour (M. C.) et Colas-Belcour (J.). — *Bull. mens. Soc. linnéenne de Normandie,* 2, 1929, 4.
17. Colas-Belcour (J.) et Romana (C.). — Présence de *Phlebotomus perniciosus* en Seine-et-Marne. *Bull. Soc. Path. Exotique, 32,* 1939, 901.
18. Colas-Belcour (J.) et Tisseuil (J.). — Nouvelle contribution à la répartition des phlébotomes en France. *Rev. Path. comp. et d'Hyg. génér., 36,* 1936, 1-7.
19. Colas-Belcour (J.) et Abonnenc (E.). — Contribution à l'étude de *Phlebotomus* (*Prophlebotomus*) *minutus* Rondani, en France. *Bull. Soc. Path. Exotique, 41,* 1948, 222-225.
20. Coudert (J.). — Présence de *Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786, à Gigondas (Vaucluse). *Bull. mens. Soc. linnéenne de Lyon, 16,* 1947, 53-54.
21. De Meira (M. T. V.) et Ferreira (T. G.). — Espèces de phlébotomes de Lisbonne et de ses environs. *Ann. Inst. Med. Trop., 1,* 1944, 269-288.
22. Doerr (R.). — Ueber ein neues invisibles virus. *Berlin Klin. Woch.,* 12 octobre 1908, n° 41, 1847-1849.
23. Doerr (R.), Franz (K.) et Taussig (S.). — *Das pappatacifieber. Ein endemisches drei-Tage-Fieber im Adriatischen Küstengebiete Oesterrich-Ungarns.* F. Denticke, Vienne, 1909, 166 pp.
24. Durand-Delacre (R.). — Sur quelques phlébotomes de la Charente. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 27,* 1949, 39-41.
25. Foley (H.). — Présence de *Phlebotomus perniciosus* Newstead, dans le département de la Haute-Marne. *Bull. Soc. Path. Exotique, 16,* 1923, 664.
26. Franca (C.). — Note sur les espèces portugaises du genre *Phlebotomus. Bull. Soc. Path. Exotique, 11,* 1918, 730-733.
27. Franca (C.). — Notes de zoologie médicale. Observations sur le genre *Phlebotomus. Rev. Broteria,* sér. zoolog., 27, 1919, 1-59.

28. Franca (C.) et Parrot (L.). — Introduction à l'étude systématique des Diptères du genre *Phlebotomus*. *Bull. Soc. Path. Exotique*, *13*, 1920, 695-708.
29. Franca (C.). — Sur la détermination spécifique d'une femelle de phlébotome. *Bull. Soc. Path. Exot.*, *14*, 1921, 23-24.
30. Franca (C.) et Parrot (L.). — Essai de classification des phlébotomes. *Arch. Inst. Past. Afr. du Nord*, *1*, 1921, 279-284.
31. Gaschen (H.). — Phlébotomes de Suisse. *Acta Trop.*, 2, 1945, 137-154.
32. Gaud (J.). — Phlébotomes du Maroc. *Bull. Soc. Sci. Natur. du Maroc*, 25/27, 1945-1947, 207-212.
33. Grassi (B.). — Ricerche sui Flebotomi. *Mem. Soc. Ital. delle Scienze*, *14*, 1907, 353-395.
34. Grassi (B.). — Intorno a un nuovo flebotomo. *C.R. Accad. dei Lincei*, *17*, 1908, 681-682.
35. Langeron (M.). — Localités nouvelles de phlébotomes. *C.R. Soc. de Biol.*, *72*, 1912, 973-974.
36. Langeron (M.). — Les phlébotomes dans la région parisienne. *Bull. Soc. Path. Exotique*, *9*, 1916, 573-576.
37. Langeron (M.). — Phlébotomes de la région parisienne. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *3*, 1925, 104.
38. Langeron (M.). — Phlébotomes de la région parisienne. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *3*, 1925, 427.
39. Langeron (M.) et Nitzulescu (V.). — *Phlebotomus larroussei* n. sp., nouvelle espèce européenne de phlébotome. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *9*, 1931, 72-76.
40. Langeron (M.) et Nitzulescu (V.). — Révision des phlébotomes de France. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *10*, 1932, 286-294.
41. Larrousse (F.). — Espèces européennes du genre *Phlebotomus* Rondani (Dipt. Psychodidæ). *Bull. Soc. Entom. de France*, séance du 25 février 1920, pp. 65-67.
42. Larrousse (F.). — *Etude systématique et médicale des Phlébotomes*. Thèse de Médecine, Paris, 1921.
43. Larrousse (F.). — Présence de *Phlebotomus perniciosus* Newstead dans le département de l'Oise. *Bull. Soc. Path. Exotique*, *16*, 1923, 16-17.
44. Larrousse (F.). — Phlébotomes observés dans de nouvelles localités françaises. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *3*, 1925, 103.
45. Lavier (G.). — Nouvelle localité française pour *Phlebotomus perniciosus*. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *13*, 1935, 279.
46. Lavier (G.). — Localité française nouvelle pour *Phlebotomus perniciosus*. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *15*, 1937, 91.
47. Lavier (G.) et Ristorcelli (A.). — Présence en Seine-et-Marne de *Phlebotomus larroussei*. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *17*, 1940, 375-379.
48. Lavier (G.) et Ristorcelli (A.). — Localités nouvelles de Seine-et-Oise pour *Phlebotomus perniciosus*. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, *17*, 1940, 592.
49. Le Chuiton (F.), Le Gac (P.) et Pennaneac'h (J.). — Présence à Toulon-sur-Mer de *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911. *Bull. Soc. Path. Exotique*, *30*, 1937, 698-699.
50. Le Gac (P.). — Sur trois phlébotomes capturés à Provins (Seine-et-Marne) et pouvant être rapportés à *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911. *Bull. Soc. Path. Exotique*, *29*, 1936, 966-970.

51. Le Gac (P.). — Note sur la présence à Saint-Raphaël (Var) de *Phlebotomus perniciosus* Newstead, 1911. *Bull. Soc. Path. Exotique*, 29, 1936, 966.
52. Le Gac (P.), Floch (H.) et Chassignet (R.). — Présence de *Phlebotomus* (*Larroussius*) *perniciosus* Newstead, 1911, et de *Phlebotomus* (*Larroussius*) *ariasi* Tonnoir, 1921, à La Théoule (Alpes-Maritimes). *Bull. Soc. Path. Exotique*, 45, 1952, 618-619.
53. Legendre (J.). — Sur l'existence dans la Somme de *Phlebotomus papatasi* Scopoli. *C.R. Soc. de Biol.*, 79, 1916, 25-26.
54. Legendre (J.). — Sur l'existence de *Phlebotomus perniciosus* en Saintonge. *Bull. Soc. Path. Exotique*, 17, 1924, 894-896.
55. Legendre (J.). — La zoophilie des phlébotomes en Saintonge. *Bull. Acad. de Médecine*, 102, 1929, 238-240.
56. Léger (M.) et Séguinaud (J.). — Fièvre de pappataci en Corse. *Bull. Soc. Path. Exotique*, 5, 1912, 710-713.
57. Lesné (P.). — Capture de *Phlebotomus papatasi* Scopoli en Bourgogne. *Bull. Soc. Entom. de France*, séance du 8 décembre 1909, p. 333.
58. Lesné (P.). — Captures de *Phlebotomus papatasi* Scop. en Bourgogne (2e note). *Bull. Soc. Entom. de France*, séance du 24 décembre 1912, pp. 410-411.
59. Mansion (J.). — Les phlébotomes de Corse. *Bull. Soc. Path. Exotique*, 6, 1913, 637-641.
60. Mansion (J.). — Les phlébotomes européens. *Bull. Soc. Path. Exotique*, 7, 1914, 584-590.
61. Mansion (J.). — Une nouvelle station de phlébotomes en France. *Bull. Soc. Path. Exotique*, 13, 1920, 735-738.
62. Marchoux (E.) — Discussion, suite communication Parrot (76). *Bull. Soc. Path. Exotique*, 15, 1922, 694.
63. Marett (P. J.). — *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. London*, 17, 1923, 267.
64. Najera Angulo (L.). — Observaciones sobre la espermateca del *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. *Med. Paises calidos*, 9, 1936, 308-319.
65. Newstead (R.). — The pappataci flies (*Phlebotomus*) of the Maltese Islands. *Bull. Entomol. Res.*, 2, 1911, 47-78.
66. Newstead (R.). — Notes on *Phlebotomus* with description of new species, II. *Bull. Entomol. Res.*, 5, 1914, 179-192.
67. Newstead (R.). — On the genus *Phlebotomus*, IV. *Bull. Entomol. Res.*, 11, 1920, 305-311.
68. Nicoli (R.-M.). — Phlébotomes de la Corse cristalline : Etude biométrique et critique du *Phlebotomus perniciosus legeri* Mansion, 1913. *Bull. Soc. Path. Exotique*, 44, 1951, 495-509.
69. Nicoli (R.-M.). — Phlébotomes de la Corse : Biologie du *Phlebotomus perniciosus legeri* Mansion, 1913. *C.R. Soc. de Biol.*, 146, 1952, 578-580.
70. Nicoli (R.-M.). — Sur la validité du *Phlebotomus perniciosus legeri* Mansion, 1913 (*Nematocera, Psychodidæ*). *Bull. Soc. Path. Exotique*, 46, 1953, 43-45.
71. Nitzulescu (V.). — Sur le *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, 1921. Sa présence en France. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, 8, 1930, 530-539.
72. Nitzulescu (V.). — Contribution à l'étude des phlébotomes du groupe *minutus* : *Phlebotomus parroti* et *Phlebotomus minutus sensu stricto*. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, 9, 1931, 111-121.
73. Nitzulescu (V.) et Dollfus (R.-P.). — Présence à Richelieu (Indre-et-Loire) de *Phlebotomus perniciosus* Newstead. *Ann. Parasit. hum. et comp.*, 12, 1934, 69.

74. Parrot (L.). — Sur un nouveau phlébotome algérien : *Phlebotomus sergenti* nov. sp. Note préliminaire. *Bull. Soc. Path. Exotique, 10*, 1917, 564-567.

75. Parrot (L.). — A propos de l'identification des phlébotomes de France. *Bull. Soc. Path. Exotique, 14*, 1921, 21-22.

76. Parrot (L.). — Présence de *Phlebotomus perniciosus* Newstead dans la région parisienne. *Bull. Soc. Path. Exotique, 15*, 1922, 694.

77. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, V. Présence de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir, dans le Sud-Ouest de la France. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 11*, 1933, 599-602.

78. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, X. Sur la spermathèque de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 12*, 1934, 386-387.

79. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, XVIII. Sur la présence en Algérie de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir et sur la spermathèque de cette espèce. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 14*, 1936, 48-49.

80. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, XXII. Présence de *Phlebotomus perniciosus* dans le département de l'Indre. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 14*, 1936, 427.

81. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, XXIV. Sur le mâle de *Phlebotomus vesuvianus* Adler et Theodor, 1931. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 15*, 1937, 104-107.

82. Parrot (L.) et Clastrier (J.). — Notes sur les phlébotomes, XXXI. Présence de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir sur le littoral algérien. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 17*, 1939, 633.

83. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, XXXIII. Présence de *Phlebotomus ariasi* Tonnoir dans la banlieue d'Alger. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 18*, 1940, 305-306.

84. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, XXXIX. A propos de deux *Prophlebotomus* d'Algérie : *Phlebotomus minutus* var. *signatipennis* et *Phlebotomus fallax*. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 20*, 1942, 322-335.

85. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, XL. Sur *Phlebotomus* (*Prophlebotomus*) *minutus* Rondani et sa variété *parroti* Adler et Theodor. *Arch. Inst. Past. d'Algérie, 21*, 1943, 38-50.

86. Parrot (L.). — Notes sur les phlébotomes, XLIII. A propos de *Phlebotomus mascittii* Grassi. *Arch. Inst. Past. d'Algérie*, 22, 1944, 52-54.

87. Parrot (L.) et Durand-Delacre (R.). — Notes sur les phlébotomes, LXVI. Sur le mâle de *Phlebotomus mascittii* et sur sa présence en France. *Arch. Inst. Past. d'Algérie. 30*, 1952, 393-397.

88. Picard (F.). — Le rôle pathogène des *Phlebotomus* (Dipt. *Psychodidæ*) et leur répartition dans l'Afrique Occidentale. *Bull. Soc. Entomol. de France*, séance du 12 mai 1909, pp. 164-166.

89. Pringault (E.). — Les phlébotomes dans la région marseillaise. *Bull. Soc. Path. Exotique, 13*, 1920, 809-810.

90. Rageau (J.). — Observations sur les phlébotomes de la région de Poitiers. *Bull. Soc. Path. Exotique, 41*, 1948, 217-222.

91. Raynal (J.) et Le Gac (P.). — Sur la présence de *Phlebotomus papatasi* Scopoli, 1786, à Marseille. *Ann. Parasit. hum. et comp., 10*, 1932, 497-503.

92. Raynal (J.) et Le Gac (P.). — Sur un exemplaire de *Phlebotomus larroussei* Langeron et Nitzulescu, 1931, capturé à La Rose (banlieue de Marseille). *Ann. Parasit. hum. et comp., 10*, 1932, 504-508.

93. Raynal (J.) et Le Gac (P.). — Etude sur plusieurs lots de phlébotomes capturés dans différents quartiers de Marseille. *Ann. Parasit. hum. et comp., 11,* 1933, 249-267.

94. Raynal (J.) et Le Gac (P.). — Note sur un phlébotome du groupe *minutus* capturé à Sainte-Maxime (Var). *Bull. Soc. Path. Exotique, 26,* 1933, 455-458.

95. Raynal (J.) et Le Gac (P.). — Sur trois phlébotomes femelles capturés dans les Hautes-Pyrénées, à Capvern, et pouvant être rapportés à *Phlebotomus ariasi* femelle. *Bull. Soc. Path. Exotique, 26,* 1933, 652-660.

96. Raynal (J.) et Le Gac (P.). — Sur la présence de *Phlebotomus ariasi* mâle et femelle à Capvern. *Bull. Soc. Path. Exotique, 27,* 1934, 467-473.

97. Raynal (J.) et Le Gac (P.). — Présence de *Phlebotomus larroussei* à Capvern (Hautes-Pyrénées). *Ann. Parasit. hum. et comp., 12,* 1934, 343-344.

98. Raynal (J.). — Contribution à l'étude des phlébotomes d'Indochine, I. Généralités. *Arch. Inst. Past. d'Indochine,* avril 1934, pp. 337-369.

99. Ristorcelli (A.). — Sur la présence à Toulouse de *Phlebotomus perniciosus. Arch. Inst. Past. d'Algérie, 14,* 1936, 426.

100. Ristorcelli (A.). — Présence à Melun (Seine-et-Marne) de *Phlebotomus perniciosus. Ann. Parasit. hum. et comp., 17,* 1939, 364.

101. Roman (E.) et Coudert (J.). — Les phlébotomes à Lyon et dans la banlieue lyonnaise. *Journ. de Médecine de Lyon,* 5 avril 1943, p. 185.

102. Rondani (C.). — *Memoria prima per servire alla Ditterologia italica,* Parma, *13,* 1840.

103. Rondani (C.). — *Species italicæ generis Phlebotomi* RNDN *ex Insectis Dipteris : fragmentum septimum ad inserviendam Ditterologiam italicam. Ann. Soc. Entom. de France,* séance du 2 août, *1,* 1843, 263-267.

104. Rossi (P.). — Contribution à l'étude des phlébotomes en Aunis. *Bull. Soc. Path. Exotique, 19,* 1926, 705-709.

105. Rossi (P.). — Sur la présence de *Phlebotomus perniciosus* à Mâcon. *Bull. Soc. Path. Exotique, 28,* 1935, 282-284.

106. Roubaud (E.). — Discussion suite communication Mansion (61). *Bull. Soc. Path. Exotique, 15,* 1920, 739.

107. Roubaud (E.). — Discussion suite communication Franca (29). *Bull. Soc. Path. Exotique, 14,* 1921, 24.

108. Rouyer (S.). — La Médecine orientale. *Soc. de Méd. Milit. française,* séance du 6 avril 1911, p. 318) : cité par Niclot (M.). — A propos de la fièvre à pappataci. *Bull. Soc. Path. Exotique, 5,* 1912, 780.

109. Sacca (G.). — Observazioni su un esemplare di *Phlebotomus parroti* raccolti a S. Felice Circeo. *Ricerca scient., 10,* 1939, 1037-1038.

110. Sacca (G.). — Presenza in Italia del *Phlebotomus larroussei* Langeron et Nitzulescu, 1931. *Boll. Soc. Entom. ital., 72,* 1940, 156-161.

111. Sacca (G.). — Sui *Phlebotomus parroti* e sulla varieta *italicus. Riv. Parassitol., 6,* 1942, 93-99.

112. Sacca (G.). — Revizione dei *Phlebotomus* della collezione Rondani : un punto fermo sulla questione del *P. minutus. Riv. Parassitol., 8,* 1947, 53-62.

113. Sacca (G.). — *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908, e i suoi sinonimi. *Riv. Parassitol., 9,* 1948, 223-226.

114. Scopoli. — *Deliciæ faunæ et floræ insubricæ, 1,* 1786, 55.

115. Sénevet (G.). — *Phlebotomus perniciosus* en France. *Bull. Soc. Path. Exotique, 28,* 1935, 581.

116. Sergent (Ed.) et Sergent (Et.). — Sur un Culicide nouveau très commun à Biskra : *Grabhamia subtilis*. *C.R. Soc. de Biol.*, *57*, 1905, 673-674.

117. Simic (T.). — Présence à Skolpje d'une nouvelle variété de *Phlebotomus perniciosus*. *Ann. de Parasit. hum. et comp.*, *10*, 1932, 431-434.

118. Sinton (J. A.). — Notes on some Indian species of the genus *Phlebotomus*, Part. XIX. The value of the genitalia female in the identification of species. *The Indian Journ. of Med. Res.*, *15*, 1927, 21-28.

119. Sinton (J. A.). — Notes on some Indian species of the genus *Phlebotomus*, Part. XX. The morphology of the buccal cavity in some species. *The Indian Journ. of Med. Res.*, *15*, 1927, 29-32.

120. Sinton (J. A.). — The synonymy of the Asiatic species of *Phlebotomus*. *The Indian Journ. of Med. Res.*, *16*, 1928, 297-324.

121. Sinton (J. A.) et Barraud (P.). — Improved methods for the identification of some species of *Phlebotomus* used in experimental work. *The Indian Journ. of Med. Res.*, *16*, 1928, 325-331.

122. Theodor (O.). — Some African sandflies. *Bull. Entom. Res.*, *24*, 1933, 537-547.

123. Tonnoir (A.). — Une nouvelle espèce européenne du genre *Phlebotomus* : *Phlebotomus ariasi*. *Ann. Soc. Entom. de Belgique*, *61*, 1921, 53-56.

124. Vermeil (C.). — Localité nouvelle pour *Phlebotomus perniciosus*. *Ann. de Parasit. hum. et comp.*, *24*, 1949, 396.

125. Villeneuve (J.). — A propos du *Phlebotomus papatasi* Scop. (Dipt.). *Bull. Soc. Entom. de France*, séance du 9 juin 1909, pp. 195-196.

126. Villeneuve (J.). — Deuxième note sur les Nématocères vulnérants (Dipt.) (espèces françaises). *Bull. Soc. Entom. de France*, séance du 22 janvier 1919, pp. 54-60.

NOTES ET INFORMATIONS

Deux cas tunisiens de myiase oculo-nasale humaine due à Oestrus ovis.

Il ressort, de l'enquête menée par le Dr Ed. Sergent sur la répartition de la Thimni dans le monde, qu'en Tunisie, aucun cas de cette myiase humaine n'a été signalé ; en effet, le Dr Seigner, ophtalmologiste, ayant occupé pendant douze ans les postes de Gafsa, Tozeur, Sousse, Bizerte, lui a déclaré n'avoir pas eu l'occasion de constater une attaque de l'homme par *Oestrus ovis*.

Il semble de prime abord curieux que cette affection bien connue en Algérie et signalée au Maroc ait respecté scrupuleusement la frontière algéro-tunisienne, surtout si l'on admet que la répartition des troupeaux de moutons obéit dans la Régence aux mêmes conditions qu'en Algérie.

Nous pouvons combler cette lacune en signalant l'existence de cette affection en Tunisie, où nous avons été amené par deux fois à déterminer des « insectes » prélevés sur la conjonctive, comme appartenant au stade primaire de la larve d'*Oestrus ovis*.

Le premier cas (deux larves recueillies) concerne un paysan tunisien des environs de Sousse ; les larves nous ont été adressées par le Dr Bierent en 1951.

Le deuxième cas (deux larves recueillies) est celui d'un soldat français en casernement au camp militaire de Bou Ficha ; les larves nous ont été adressées par le Médecin Commandant Cosset en 1953.

C'est donc dans le Sahel tunisien que ces deux cas ont été rencontrés. Les moutons sont moins nombreux en bordure de la mer que dans les steppes et le long de la piste de transhumance. L'oestre a pu attaquer l'homme, à défaut des moutons, hôtes de prédilection, mais plus rares sur le littoral, et ceci comme le Dr Sergent l'a observé en Algérie.

L'identification de ces larves a été aisée grâce aux descriptions précises de Larrousse et du Professeur Galliard.

Bibliographie

Galliard (H.). — Un nouveau cas de myiase oculaire due à *Oestrus ovis* en France. *Ann. Par. Hum. Comp.*, 1934, 177.

LARROUSSE (F.). — La myiase oculaire à *Oestrus ovis* L. dans la région parisienne. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1921, 595.

SERGENT (E.). — La Thimni, myiase oculo-nasale de l'homme causée par l'œstre du mouton. *Arch. Inst. Past. Algérie*, 1952, 319.

C. VERMEIL
(*Institut Pasteur de Tunis*).

Chironomus.

Un ouvrage consacré aux Chironomes mérite d'être signalé aux lecteurs de ces *Annales*, non seulement parce que l'auteur y étudie aussi les Cératopogonidés, mais parce que ces Insectes sont bien souvent associés aux Culicidés dans leurs gîtes aquatiques divers.

Chironomus, d'Auguste Thienemann (1), est une véritable encyclopédie consacrée, par l'éminent spécialiste, à ce groupe important. Elle est illustrée de 300 figures et de 21 planches hors-texte ; elle est terminée par plusieurs index et par une bibliographie de mille références environ.

Les cytologistes et les généticiens s'offusqueront peut-être de ce que les fameux chromosomes géants de *Chironomus plumosus* ne soient l'objet d'aucune attention spéciale et ne figurent que dans une note infrapaginale ; mais, répétons-le, il s'agit d'un travail de biogéographie et d'écologie.

J. CALLOT.

***Culex apicalis* d'Europe doit reprendre le nom de *Culex territans Walker*.**

Dans une note récente Mattingly, utilisant un travail de Bohart (1948) sur les *Neoculex* d'Amérique du Nord, est arrivé à la conclusion que ce qu'on appelle *Culex* (*N.*) *apicalis* Adams en Grande-Bretagne est en réalité le *Culex territans* de Walker (2).

En me servant du tableau comparatif dressé par Mattingly pour ces deux espèces à leurs différents stades, j'ai examiné les larves, les nymphes et les adultes étiquetés *C. apicalis* Adams qui sont dans mes collections.

Les larves proviennent des environs de Paris (Verrières), de Bretagne (Erquy), de Charente-Maritime, de Richelieu (Indre-et-Loire) et des environs de Strasbourg.

Il n'y a pas de doute que toutes correspondent à la description de

(1) *Chironomus* Leben, Verbreitung und wirtschaftliche Bedeutung der Chironomiden. *Die Binnengewässer*. Tome XX, 1954, 834 pp., in-8°, Stuttgart, E. Schweizbart.

(2) MATTINGLY (P. F.). — *Proc. R. Entom. Soc. London* (B), XXII, 1953, p. 106-108.

territans Walker, *sensu* Mattingly-Bohart. La seule différence que j'ai pu trouver est que la soie céphalique C est toujours double dans les exemplaires que j'ai eus sous les yeux, alors que Bohart la dit généralement simple, par contre sa longueur est bien comprise entre la moitié (rarement) et les trois quarts (le plus souvent) de celle de B. (1).

J'ai pu examiner des dépouilles nymphales provenant de Richelieu et des environs de Paris. Elles correspondent à la description de Mattingly.

Mattingly a eu à sa disposition des adultes des deux sexes de Rambouillet et de Soucy (= Sucy). Ils ne présentent pas, d'après lui, de différences notables avec les *territans* britanniques.

J'ai examiné des adultes mâles et femelles de Richelieu, des environs de Strasbourg, des Alpes et de Charente-Maritime, et des genitalia d'*apicalis* de Richelieu. Là encore, j'arrive aux mêmes conclusions pour la France que Mattingly.

J. Callot.

(*Institut de Parasitologie, Strasbourg*)

(1) A ce propos, je note que chez *C. impudicus* de France et de Tunisie la soie C a une longueur comprise entre la moitié et le tiers de celle de B.

Le Gérant : G. Masson.

Masson et Cie, éditeurs, Paris
Dépôt légal : 1954 (3e trimestre). — Numéro d'ordre : 1.905
Imprimé par Imp. A. Coueslant (*personnel intéressé*)
à Cahors (France). — 86.167. — C.O.L. 31.2330